

**Untersuchungen zur Zyklus- und Graviditätsdiagnostik  
beim Großen Ameisenbären (*Myrmecophaga tridactyla*)**

INAUGURAL-DISSERTATION  
zur Erlangung des Grades eines  
Dr. med. vet.  
beim Fachbereich Veterinärmedizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

**Nicole Schauerte**

Aus der Klinik für Geburtshilfe, Gynäkologie und Andrologie  
der Groß- und Kleintiere mit Tierärztlicher Ambulanz  
der Justus-Liebig-Universität Gießen  
Betreuer: Prof. Dr. Dr. h.c. H. Bostedt

**Untersuchungen zur Zyklus- und Graviditätsdiagnostik  
beim Großen Ameisenbären (*Myrmecophaga tridactyla*)**

INAUGURAL-DISSERTATION  
zur Erlangung des Grades eines  
Dr. med. vet.  
beim Fachbereich Veterinärmedizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Eingereicht von  
**Nicole Schauerte**  
Tierärztin aus Dortmund

Gießen 2005

Mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Dekan:

Prof. Dr. Manfred Reinacher

Gutachter:

Prof. Dr. Dr. h.c. mult. H. Bostedt  
PD Dr. B. Schildger

Tag der Disputation:

09.12.2005

## Danksagung

Für die Möglichkeit die Untersuchungen durchführen zu können, sei an dieser Stelle dem *Zoo Dortmund* gedankt

In diesem Zusammenhang gilt mein besonderer Dank *Herrn Dr. Bartmann †* als dem Förderer dieser Arbeit

Für die Geduld und wissenschaftliche Förderung sei *Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. mult. Bostedt* herzlich gedankt

Mein persönlicher Dank richtet sich an *Frau Dr. Osmann* (Zootierärztin) und an die *Tierpfleger* des Dortmunder Zoos für die wertvolle Unterstützung

Lieben Dank an meine *Eltern* für ihr langjähriges Verständnis

# **Inhaltsverzeichnis**

## **1.0 Einleitung**

## **2.0 Schrifttum**

### **2.1 Biologie des Großen Ameisenbären**

#### 2.1.1 Systematik

#### 2.1.2 Verbreitung, Status, Habitat, Ernährung

#### 2.1.3 Allgemeine Morphologie der Großen Ameisenbären

#### 2.1.4 Morphologie der Geschlechtsorgane

#### 2.1.5 Verhalten in der Wildbahn

#### 2.1.6 Fortpflanzungs- und Sozialverhalten

### **2.2 Zyklusdiagnostik**

#### 2.2.1 Exfoliative Vaginalzytologie

##### 2.2.1.1 Einteilung der Zyklusphasen bei der Hündin und der Katze

##### 2.2.1.2 Aufbau und Histologie des vestibulo-vaginalen Abschnittes

##### 2.2.1.3 Grundlagen der Vaginalzytologie

##### 2.2.1.4 Vaginalzytologie bei der Hündin und der Katze als Basismodell

##### 2.2.1.5 Vaginalzytologische Befunde bei der Hündin

##### 2.2.1.6 Vaginalzytologische Befunde bei der Katze

##### 2.2.1.7 Überblick über vaginalzytologische Untersuchungen bei anderen Spezies

##### 2.2.1.8 Auswertungskriterien

#### 2.2.2 Einsatz von Hormonanalysen aus dem Kot zur Detektierung der Zyklusphasen (Perioden)

##### 2.2.2.1 Spezielle Zyklusdiagnostik beim Großen Ameisenbären mittels Hormonbestimmung aus dem Kot

## **2.3 Graviditätsdiagnostik beim Großen Ameisenbären**

### **2.3.1 Klinische Graviditätsdiagnostik**

#### **2.3.1.1 Bauchumfang**

#### **2.3.1.2 Sonographie**

### **2.3.2 Graviditätsdiagnostik mittels Hormonbestimmung aus dem Kot bei verschiedenen Zootier-Spezies**

### **2.3.3 Graviditätsdiagnostik beim Grossen Ameisenbären mittels Hormonbestimmung aus dem Kot**

## **3.0 Material und Methoden**

### **3.1 Haltungsmanagement**

### **3.2 Probandenkollektiv**

### **3.3 Anatomische Grundlagen**

### **3.4 Klinische Beurteilung des äußeren weiblichen Genitale**

### **3.5 Vestibulo-vaginale Zytologie**

### **3.6 Methode der Extraktion von Hormonmetaboliten aus dem Kot**

### **3.7 Sonographie**

## **4.0 Ergebnisse**

### **4.1 Voruntersuchungen**

#### **4.1.1 Anatomische Grundlagen**

### **4.2 Klinische Beurteilung**

#### **4.2.1 Beurteilung des äußeren weiblichen Genitale**

#### **4.2.2 Sekretion aus der Rima vulvae**

### **4.3 Befundung der vestibulo-vaginalen zytologischen Präparate**

#### **4.3.1 Kriterien für die Unterscheidung der Epithelzellarten im vestibulo-vaginalen Abstrichmaterial**

#### **4.3.2 Einteilung der Zyklusphasen und Bestimmung der Zykluslänge anhand der vestibularzytologischen Befunde**

#### **4.3.3 Darstellung der Zykluslänge anhand von Hormonmetaboliten im Kot**

#### **4.4 Kohabitation und Gravidität, Geburt und postpartale Phase**

4.4.1 Kohabitationsverhalten und Nachweis von Spermien im Abstrichmaterial

4.4.2 Graviditätsdiagnostik mittels Vestibularzytologie

4.4.3 Eintritt des ersten Östrus post partum

4.4.4 Hormonanalytische Untersuchung während der Gravidität und Geburt

#### **4.5 Sonographie**

4.5.1 Anatomische Grundlagen und Durchführung

4.5.2 Graviditätsdiagnostik und Verlaufsuntersuchung

### **5.0 Diskussion**

### **6.0 Zusammenfassung**

### **7.0 Summary**

### **8.0 Literaturverzeichnis**

### **9.0 Anhang**

9.1 Tierbestand im Zoo Dortmund

9.2 Sektionsgut

## 1.0 Einleitung

Der südamerikanische Große Ameisenbär (*Myrmecophaga tridactyla*) und sein kleinerer Verwandter, der Tamandua, sind von der Ausrottung bedroht. Ihr Lebensraum schwindet durch zunehmende menschliche Besiedlung und Kultivierung (Straßenbau, Weidewirtschaft, Brandrodung). Zusätzlich trägt auch die Bejagung durch den Menschen zur Bestandsdezimierung bei. Die Lebensgewohnheiten und das Verhalten dieser Tiere sind kaum erforscht. Eine dauerhafte Lebensgrundlage in ihrer natürlichen Umwelt kann den Ameisenbären nur in Nationalparks und bestimmten Schutzgebieten gewährt werden. Erhaltung und Zucht des Großen Ameisenbären ex situ, also außerhalb seiner Verbreitungsgebiete, zum Beispiel in Zoologischen Gärten, sind Aufgaben mit zunehmender Bedeutung, da der Status dieser Tiere entsprechend des „RED DATA BOOK“ als „gefährdet“ eingeschätzt wird.

In Zoologischen Gärten wird der Große Ameisenbär selten gehalten. Seine Nachzucht gelingt nur ausnahmsweise, was im Zusammenhang mit der instabilen Freilandpopulation einen unbefriedigenden Zustand darstellt. Allein der Dortmunder Zoo züchtet den Großen Ameisenbären in Westeuropa seit Jahrzehnten erfolgreich und hier wird auch die größte Gruppe gehalten. Der Dortmunder Zoo ist somit weltweiter Schwerpunkt der wissenschaftlichen Forschung über die Biologie des Großen Ameisenbären und sein Zuchtmanagement. Vor allem durch intensive Zoobeobachtungen über das Sozial- und Fortpflanzungsverhalten und die Jugendentwicklung wurden hier bereits seit Jahren fundamentale Erkenntnisse gewonnen. Das Bild über die Bedürfnisse dieser Tierart wird vervollständigt durch Beobachtungen im Freiland, die wertvolle Einzelheiten über ihren Lebensraum, ihr Territorialverhalten, ihre Aktivitäten und Nahrungsgewohnheiten entschlüsseln.

Mangelhaft sind dagegen die Kenntnisse über die Morphologie des Reproduktionstraktes beim Großen Ameisenbären. Selbst die Geschlechtsbestimmung hat sich mehrfach als problematisch erwiesen.



Ausreichende Kenntnisse über die Fortpflanzungsphysiologie, Zyklusabläufe, Graviditätsverlauf und -diagnostik stellen die Grundvoraussetzung für eine erfolgreiche Zucht dar. Nur so kann künftig ein wichtiger Beitrag zur Bestandserhaltung und -vermehrung geleistet werden.

Grundsätzlich war mit der Wahl des Themas die Frage verbunden, ob eine Optimierung des Haltungs- und Zuchtmanagements beim Großen Ameisenbären (*Myrmecophaga tridactyla*) möglich sei. Diese ist nur zu beantworten, wenn eine Reihe von Teilgebieten einer näheren Untersuchung unterliegen.

Die vorgelegte Arbeit verfolgte demnach mehrere Ziele: Einerseits den Zyklusverlauf beim Großen Ameisenbären (*Myrmecophaga tridactyla*) mittels Vaginalzytologie exakt festzulegen, andererseits die phasische Einteilung des Zyklus auf der Basis eines Zellprofils (Gesamtzykluslänge, Proöstrus, Östrus, Met- und Diöstrus, bzw. Interöstrus), die Bestimmung des Zykluscharakters (Auf- oder Abbaublutung) sowie die Ermittlung des optimalen Deckzeitpunktes. Die Erkennung des Östrus durch Beurteilung des klinischen Habitus und die klinische Befunderhebung am Tier sollte als weiteres Diagnostikum herangezogen und hinsichtlich ihrer Aussagefähigkeit und Reproduzierbarkeit überprüft werden. Als flankierende Maßnahme diene die koprologische Bestimmung von Östrogen- und Progesteronmetaboliten zur Bestätigung der Zelldiagnostik. Über die Ausdehnung der genannten Untersuchung auf gravide Tiere sowie die Ultrasonographie während verschiedener Abschnitte der Gravidität sollten zusätzlich Erkenntnisse über den physiologischen Graviditätsverlauf, die Geburt sowie die prä- und postpartale Periode gewonnen werden.

## 2.0            **Schrifttum**

### 2.1            Biologie des Großen Ameisenbären

#### 2.1.1          **Systematik**

Die **Familie** der Ameisenbären (*Myrmecophagidae*) gehört, wie die **Unterordnung** der Faultiere (*Cholopodidae*) und die der Gürteltiere (*Dasypodidae*), zur **Ordnung** der **Xenarthra**, der Nebengelenktiere, die in der Tertiärzeit überaus formenreich entfaltet waren. Die drei heute noch lebenden Familien der Nebengelenktiere sind sehr unterschiedlich spezialisiert und weichen in ihrem äußeren Erscheinungsbild sowie im Körperbau stark voneinander ab.

Die Xenarthra wurden früher, teilweise auch heute noch, mit mehreren, nicht näher verwandten Säugetierstämmen, den neuweltlichen Nebengelenktieren (*Xenarthra*), den altweltlichen Schuppentieren (*Pholidota*) und den Erdferkeln (*Tubulidentata*) zur Ordnung der Edentata (Zahnarme), zusammengefasst. Diese Säugetierstämmen haben sich im Paläozän und Pliozän in der Zeit von vor 65 bis 2 Millionen Jahren aufgesplittet. Für die Gemeinsamkeit der Edentata gilt die starke Rückbildung des Gebisses, was zweifellos mit der Ernährung zusammenhängt. Ausgesprochene Ameisenesser wie die Ameisenbären sind zahnlos (MOELLER, 1988).

#### **Ordnung            Xenarthra**

**Unterordnung**    Ameisenbären oder Wurmzüngler (*Vermilingua*)

**Familie**            Ameisenbären (*Myrmecophagidae*)

**Unterordnung**    Faultiere (*Pilosa*)

**Familie**            Dreifinger-Faultiere (*Bradypodidae*)

**Familie**            Zweifinger-Faultier (*Choloepidae*)

**Unterordnung**    Gürteltiere oder gepanzerte Nebengelenktiere (*Cingulata*)

**Familie**            Gürteltiere (*Dasypodidae*)

### **2.1.2. Verbreitung, Status, Habitat, Ernährung**

Das Verbreitungsgebiet des Großen Ameisenbären erstreckt sich vom äußersten Süden Patagoniens über ganz Süd- und Mittelamerika bis hin nach Kansas und Missouri in den USA (MOELLER, 1988). Dabei werden von den Bodenbewohnern ganz unterschiedliche Lebensräume erschlossen, wie beispielsweise Hochgebirge, tropischer Regenwald, Waldungen, Savannen, Pampas und Kulturlandschaften.

Sein Status gilt inzwischen als gefährdet, da in seinem natürlichen Verbreitungsgebiet, ganz besonders in Bolivien, die Bejagung bedrohliche Ausmaße angenommen hat. Eine weitere Rolle spielt die Landnahme durch den Menschen, bei der durch zunehmende Landkultivierung, Straßenbau und Weidewirtschaft der Lebensraum für diese Tierart immer mehr schwindet. Eine dauerhafte Lebensgrundlage kann diesen Tieren nur in Nationalparks und Schutzgebieten gewährt werden, wie es sie bisher in erster Linie in Brasilien und Französisch-Guayana gibt (MOELLER, 1988).

Die natürlichen Feinde der Ameisenbären sind Jaguar und Puma, gegen die sie sich aber mit ihren kräftigen Vordergliedmaßen und den langen Krallen zur Wehr setzen. Von Natur aus sind diese Tiere jedoch sehr friedlich. Sie greifen von sich aus nie an und haben auch nur einen geringen Fluchtabstand.

Die Nahrung des Großen Ameisenbären besteht hauptsächlich aus Insekten und deren Larven, Würmern und auch Beeren (GRZIMEK, 1968). In erster Linie ernährt er sich von Ameisen und Termiten, deren harte Termitenhäufen er mit den Krallen aufreißt. Die Nase wird in die Öffnung gesteckt und er wühlt sich bis in die Mitte des Termitennestes ein. Da die lange Zunge durch große Speichelmengen einen klebrigen Überzug erhält, bleiben die Insekten daran haften. In der Mundhöhle befinden sich am Gaumendach und in den Wangenfalten scharfe, nach kaudal gerichtete Hornpapillen (sogenannte Zungenkratzer), an denen die Insekten abgestreift werden. Dabei drückt der Unterkiefer die Zunge nach oben. Im muskulösen Magen werden die Insektenpanzer zerrieben. Bei Freilandbeobachtungen wurde festgestellt,

dass der Große Ameisenbär bis zu 160 mal in der Minute mit der Zunge in das Nest stößt (GRZIMEK, 1968 und MOELLER, 1988). Es werden aber nur 150 Ameisen oder Termiten in die Mundhöhle befördert, was den Bedarf der Tiere bei weitem nicht deckt. Der liegt 100 bis 200 mal höher, was einer Zahl von bis zu 35000 Ameisen beziehungsweise Termiten pro Tag entspricht. Auf diese Weise entnehmen Ameisenbären nur einen kleinen Teil des Volkes. Dann streifen sie gleich weiter, um den nächsten Bau zu erschnüffeln. Kein Ameisenbau wird von ihnen vollständig zerstört. Auch die Wehrhaftigkeit der Ameisen-Soldaten dürfte für die relativ kurze Verweildauer der Ameisenbären an den Kolonien verantwortlich sein (POGLAYEN-NEUWALL, 1990; anonymer Autor, 1992). Auf einer Fläche von fünf mal fünf Metern können sich bis zu 49 Futterstellen befinden (MOELLER, 1988).

Die Schäden der Bauten werden von den Ameisen und Termiten umgehend repariert und der Termitenbestand erholt sich sehr schnell wieder. So bleibt die Nahrungsquelle der Großen Ameisenbären dauerhaft erhalten, was biologisch sinnvoll ist.

### **2.1.3 Allgemeine Morphologie der Großen Ameisenbären**

Die Tiere der Ordnung Xenarthra, die Nebengelenktiere, besitzen eine anatomische Besonderheit, die sonst bei keinem anderen Säugetier zu finden ist. Sie haben zwei zusätzliche Gelenkpaare an den letzten Brust- und an den Lendenwirbeln (Nebengelenke). Ebenso ist das Becken zu einem „Synsacrum“ umgebildet, ähnlich wie bei den Vögeln. Dabei verwachsen die Einzelelemente des Beckens miteinander und bilden mit dem Kreuzbein sowie mit den vorderen Schwanzwirbeln zusammen einen massiven, knöchernen Komplex. Dieses „Synsacrum“ und die zusätzlichen Wirbelgelenke verleihen besonders dem Lendenabschnitt eine erhöhte Festigkeit. Die durch die Nebengelenke verfestigte Wirbelsäule ist den Gürteltieren beim Graben während der Nahrungssuche von großem Nutzen. Im Gegensatz dazu lassen Ameisenbären in ihrer Bewegungsweise keine Beziehung mehr zu den vorhandenen Nebengelenken erkennen (MOELLER, 1988).

Bei den Ameisenbären gibt es drei Gattungen mit vier Arten:

- Großer Ameisenbär (*Myrmecophaga tridactyla*)
- Nördlicher Tamandua (*Tamandua tetradactyla*)
- Südlicher Tamandua (*Tamandua mexicana*)
- Zwergameisenbär (*Cyclopes didactylus*)

Nachfolgend sei nur der Große Ameisenbär einer näheren wissenschaftlichen Betrachtung unterzogen.

Der Große Ameisenbär hat etwa die Größe eines Schäferhundes. Seine Körper-Rumpf-Länge beträgt 100 bis 130 cm und seine Schwanzlänge 65 bis 90 cm. Das Körpergewicht schwankt bei den Weibchen zwischen 23 und 63 Kilogramm und zwischen 42 bis 56 Kilogramm bei den männlichen Tieren. POGLAYEN-NEUWALL (1990) und SCHRATTER (2001) erwähnen, ohne dies näher zu erklären, beträchtliche Größenunterschiede bei adulten Tieren von bis zu 30%.

Das Haarkleid des Großen Ameisenbären ist dicht, derb und strohig, wobei es am Kopf kürzer und nur die Schwanzfahne lang (bis 40 cm) behaart ist. Der Kopf ist sehr langgezogen und röhrenförmig, Ohrmuschel, Augen und die Mundspalte sind klein. Der pinzettenförmige Mund ist zahnlos und hat ihm in der Indianersprache den Namen „Yurumi“, Kleinmund, eingetragen (GRZIMEK, 1968 und MOELLER, 1988).

Die bis zu 60 cm lange wurmförmige Zunge wird durch die sehr großen und zahlreichen Speicheldrüsen ständig feucht gehalten. Der Speichel fungiert als Schmiermittel, da die Zunge bis zu 160 mal in der Minute in ein Ameisen-beziehungsweise in ein Termitennest stößt. Die Speicheldrüsen, insbesondere die Glandulae submandibulares und die Glandulae buccales, erreichen ein Ausmaß wie bei keinem anderen Säugetier. Die Glandulae submandibulares sind hufeisenförmig und reichen vom Kieferwinkel über den Nacken bis zum Brustkorb. Sie haben eine Länge von 40 cm und sind fünf bis sechs Zentimeter dick. Das Drüsengewebe bildet eine Fläche, die von einer Schulter zur anderen reicht. Die Speichel-Ausführungsgänge sind sehr

dilatiert und bilden Reservoir, kleine sogenannte „Speichelbläschen“. Die großen Halsgefäße (Arteria carotis externa und Vena jugularis externa) durchziehen das Drüsengewebe im Cervikalbereich. Die bukkalen Speicheldrüsen liegen zwischen der Mandibula und dem Musculus genioglossus und reichen bis in den Kieferwinkel. Sie sind 35 cm lang und zwischen drei und zehn Zentimeter dick. Die Gll. submandibulares haben einen seromukösen, die Gll. buccales einen mukösen Charakter (MEYER et al., 1993).

Der Larynx befindet sich bei diesen Tieren im Bereich des Brusteinganges, also viel weiter kaudal als bei anderen Säugern.

Die Gliedmaßen sind stämmig, dabei sind die Arme kräftiger gebaut als die Beine. Die Vorderpfoten setzt der Grosse Ameisenbär mit eingeschlagenen Krallen auf der Außenkante des letzten Fingergliedes auf, und die Hinterpfoten berühren nur mit halber Sohle den Boden. Der erste Finger der Vorderpfote ist sehr klein und hoch angesetzt. Die Kralle des dritten Fingers ist am stärksten ausgebildet und bis zu 10 cm lang. Der fünfte Finger ist ebenfalls langkrallig, dagegen ist der vierte Finger kleiner und besitzt am Grunde eine große, kissenartig verhornte Schwiele zum Schutz vor den eingeschlagenen Krallen. Diese Schwiele ist noch von einer weiteren ähnlichen, aber kleineren Schwiele am Karpus durch weiche Haut getrennt. Die Hinterpfote ist fünfzehig, dabei sind die zweite, dritte und vierte Zehe gleich lang. Die erste ist höher angesetzt und die fünfte ist ein wenig kleiner als die anderen (GRZIMEK, 1968).

Der Magen der Ameisenesser ist muskulös und hornig ausgekleidet, wobei sich kleine Steinchen und Sand in ihm befinden. Auf diese Weise wird der Chitinpanzer der Insekten und -larven zerrieben (PFLUMM, 1989).

GROTE (1943) beschreibt die Leber des Großen Ameisenbären. Sie ist spezialisierter als bei den anderen Xenarthren, da sich zwei Abschnitte des Hohlvenen- oder Dorsallappens, der Lobus papillaris und der Lobus caudatus, reduziert haben. Der linke Seitenlappen der Leber ist größer als der rechte, was GROTE als „altertümlich“ ansieht. Der Lobus papillaris ist nur rudimentär

vorhanden, und der ebenfalls rudimentäre Lobus caudatus ist ganz mit dem rechten Seitenlappen verschmolzen.

WILKENS (1943) untersuchte das Herz des Großen Ameisenbären. Es gibt zwei Merkmale, die für die höheren Primaten charakteristisch sind, nämlich zum einen die Verlagerung der Herzspitze nach links, und zum anderen die Abplattung der Kaudalfläche der Ventrikel. Diese zwei Merkmale sind auch beim Ameisenbären zu finden, ohne die ursächlich wirksamen Faktoren (Verkürzung des Rumpfes und aufrechter Gang). Das heißt, es handelt sich hier um eine Konvergenzerscheinung, die keine Beziehung zur stammesgeschichtlichen Herkunft erkennen lässt.

Das zentrale Nervensystem der Ameisenbären ist sehr einfach gebaut mit seinen wenig gefurchten Vorderhirnhälften, seinen großen Riechlappen und dem ausgeprägtem Riechhirn (MOELLER, 1988). Geruchssinn und Gehör sind am stärksten ausgebildet, das Sehvermögen ist dagegen untergeordnet. Mit einer Körpertemperatur von 32-34°C handelt es sich nach MOELLER (1988) um Säugetiere mit einer unvollkommenen Temperaturregulation.

#### **2.1.4 Morphologie der Geschlechtsorgane**

Da die Großen Ameisenbären nicht über einen ausgeprägten Sexualdimorphismus verfügen, ist für die sichere Geschlechtsbestimmung eine genaue Differenzierung notwendig. BARTMANN et al. (1991) beschreiben den Penis des Großen Ameisenbären als „stumpf“, „nach kaudoventral hervortretend“, „mit einer deutlich ausgeprägten Rinne in der Medianen“ die nach ventral gerichtet in eine 0,8 Zentimeter lange schlitzförmige Präputialöffnung übergeht. Die Hoden liegen intraabdominal, eine ganzjährige aktive Spermiogenese findet statt. Dadurch sind die Spermatozyten für längere Zeit der normalen Körpertemperatur ausgesetzt, die allerdings nur 32-34°Celsius beträgt.

Innerer und äußerer Bau des Penis erlauben bei nur mäßigem Erektionsvermögen kein tiefes Eindringen in die Vagina des Weibchens.

Somit wird durch eine relativ große Ejakulatmenge sichergestellt, dass die Spermien den Uterus erreichen und eine Befruchtung ermöglichen. Die genaue Ejakulatmenge wird von den Autoren jedoch nicht angegeben (BARTMANN et al., 1991).

Bei den weiblichen Tieren ist ein durchgehender Schamspalt vorhanden, der die beim männlichen Ameisenbär beschriebene Vorwölbung in zwei Labien trennt (BARTMANN, 1983).

Über die Anatomie der weiblichen Geschlechtsorgane sind in der Literatur nur wenige Angaben zu finden. Die Großen Ameisenbären sind neben den Primaten die einzigen Säugetiere, die einen Uterus simplex aufweisen. POUCHET (1874) gibt für die Länge der Rima vulvae zwei Zentimeter, für die Länge der Vagina fünf Zentimeter und für den Uterus insgesamt neun Zentimeter an. Dabei fallen zwei Zentimeter auf den Uterushals und sieben Zentimeter auf den Uteruskörper. Die Länge des Vestibulums wird vom Autor nicht erwähnt. GRASSÉ (1955) spricht von einem Sinus urogenitalis, der durch eine Schleimhautfalte von der Vagina getrennt ist. Vagina und Uterushals gehen praktisch unauffällig ineinander über, die Zervix ist nicht deutlich ausgeprägt. Die Zitzen sind brustständig und paarig angelegt.

### **2.1.5 Verhalten in der Wildbahn**

Der Große Ameisenbär hat ein sehr ausgeprägtes Schlafbedürfnis. Er schläft in Mulden, die sich ebenerdig, meist im Schutz von Büschen oder Bäumen, befinden. Dort rollt er sich ein und deckt sich mit seinem buschigen Schwanz zu, den er wie ein Strohdach benutzt. Auf diese Weise ist er sehr gut getarnt (GRZIMEK, 1968). Tagsüber ist er aktiv und begibt sich auf Nahrungssuche, wenn das Gebiet unbesiedelt oder die Landstriche wenig besucht sind. Ansonsten sucht er sich seine Nahrung nachts im Schutz der Dunkelheit. In freier Wildbahn streift der Große Ameisenbär als Einzelgänger oder im Mutter-Kind-Verband durch die Savanne. Er gilt als unverträglich anderen Ameisenbären, gegenüber und jedes Tier hat sein Revier mit bevorzugtem



Wechsel und einem meistbenutzten Schlafplatz. Die einzelnen Reviere überlappen sich weitläufig. Die Tiere sind immer zu bestimmten Zeiten des Tages an derselben Stelle zu sehen, immer nur wenige Meter vom Ort des Vortages entfernt. Die Reviertreue wurde bereits von BARTMANN (1983) mittels Ohrmarken belegt, die er den Tieren anlegte. Noch nach drei Jahren konnten die Ameisenbären in ihren Revieren wiedergefunden werden. Nach MOELLER (1988) liegt die Tierbesatzdichte bei 1,2 Ameisenbären pro Quadratkilometer.

### 2.1.6 Fortpflanzungs- und Sozialverhalten

Für diese Spezies sind keine geschlechtsspezifischen Begriffe für die Geschlechter gebräuchlich, nachfolgend beschränken sich die Bezeichnungen auf Weibchen und Männchen.

Große Ameisenbären leben solitär. Ein Sozialverhalten im eigentlichen Sinne ist bei ihnen nicht ausgeprägt. Nur zur Brunstzeit kommt es zum Kontakt zwischen den Geschlechtern. Wenn sich das weibliche Tier im Östrus befindet, folgt ihm das männliche Tier. Nach der Paarung trennen sich die Tiere wieder. Die Brunst ist bei dieser Tierart asaisonal-polyöstrisch.

In Zoologischen Gärten können dagegen mehrere der untereinander verträglichen Weibchen mit einem Männchen zusammen gehalten werden (WIDHOLZER und VOSS, 1977). Bei den männlichen Ameisenbären kann es jedoch zu Unverträglichkeiten kommen. Weibliche Tiere, die ein Jungtier mit sich führen, und trächtige Weibchen müssen ebenfalls abgetrennt werden. Es besteht für sie Verletzungsgefahr durch die Klauen männlicher Tiere (BARTMANN, *mündliche Mitteilung*).

Nur bei genauer Beobachtung sind äußerlich sichtbare Anzeichen des Östrus beim weiblichen Großen Ameisenbären erkennbar. In dieser Phase kann es zu einem blutigen Vaginalausfluss kommen, der individuell unterschiedlich stark ausgeprägt ist und auch individuell lang andauern kann (POGLAYEN-NEUWALL, 1990; HATT, 1998; SCHRATTER, 2001; BARTMANN, *mündliche Mitteilung*). Diese Blutung tritt nur unregelmäßig auf oder fehlt oft ganz und kann daher nicht als verlässlicher Anzeiger des Östrus

gelten (POGLAYEN-NEUWALL, 1990; SCHRATTER, 2001). Ebenso ist der Ursprung der Blutung unbekannt. Ob es sich bei der Blutung um eine endometriale Aufbaublutung, ähnlich wie beim Hund, oder um eine Abbruchblutung, wie beim Primaten handelt, ist bislang ungeklärt.

Durch ein vermehrtes Interesse des Männchens dem weiblichen Ameisenbären gegenüber können aber Rückschlüsse auf den Östrus gezogen werden. Das männliche Tier bewittert die Anogenital-Region des Weibchens intensiv und leckt seinen Urin auf. Beim Paarungsvorspiel übernimmt das weibliche Tier den aktiveren Teil, wie BARTMANN (1993) beobachten konnte. Beim Deckakt wird die Ameisenbärin von hinten umklammert oder manchmal auch seitlich zu Boden gedrückt. In dieser Lage erfolgt die Kopulation mehrmals innerhalb von drei Tagen hinweg.

Nach einer Graviditätsdauer von 180 bis 190 Tagen wird ein einzelnes Jungtier mit einem Geburtsgewicht von 1000 bis 1500 Gramm geboren. Große Ameisenbären sind überwiegend unipare Tiere, Zwillingsgeburten sind eine Seltenheit und treten nur gelegentlich auf (SCHRATTER, 2001). Kurz vor der Geburt schwillt die Vulva sehr stark an (POGLAYEN-NEUWALL, 1990). Große Ameisenbärinnen gebären im Stehen mit einer schnellen Austreibungsphase. Dabei sind bei Geburt unter menschlicher Kontrolle sowohl fetale Vorder- als auch in Hinterendlagen registriert worden. Der Neonat erklimmt mit noch anhaftenden Eihäuten unmittelbar nach der Geburt die Mutter. Das Junge trinkt im Liegen abwechselnd an den brustständigen Zitzen.

Bei den Jungtieren liegt ein ausgeprägter Spieltrieb vor, der sich in einem spielerischen Balgen zwischen Mutter und Kind äußert (BARTMANN, 1983; SCHRATTER, 2001). Dabei greift das Junge zum Schein die Mutter an, springt um sie herum, hangelt mit den Vorderbeinen und wirft sich gegen ihren Körper. Das Muttertier zeigt sich hierbei sehr geduldig und geht sogar auf dieses Spielverhalten ein.

Auch kleinere Alleingänge macht der Nachwuchs schon im Alter von sechs Wochen. Bei der geringsten Störung läuft das Jungtier aber panikartig zur Mutter zurück und erklimmt ihren Rücken. In diesem Zusammenhang begibt

sich die Mutter in die Hocke, um ihm das Aufsteigen zu erleichtern. Es sitzt rittlings auf ihrem Schwanzansatz, wodurch die Fellzeichnung von Mutter und Kind nahtlos ineinander übergehen. So sind beide perfekt vor Greifvögeln getarnt. Diesen optischen Tarneffekt bezeichnet man als „Kryptopädie“. Das Jungtier wird in der freien Wildbahn bis zur Selbständigkeit im Alter von etwa 9 Monaten von der Mutter herumtragen (BARTMANN, 1983). Mit anderthalb Jahren kann es schon ein Gewicht von 50 Kilogramm erreichen.

Jungen Großen Ameisenbären ist innerhalb der ersten Lebensmonate ein Trillerton als Verlassenheitslaut zueigen, den sie immer dann ausstoßen, wenn sie Anschluss an die Mutter verlieren oder sonst beunruhigt sind. Dieses Trillern verfehlt nie seine Signalwirkung. Die Mutter eilt daraufhin schnell herbei, um das Jungtier zu verteidigen (BARTMANN, 1983 und 1985). Nach einigen Monaten verlieren die Jungtiere jedoch die Fähigkeit zur stimmlichen Lautgebung und sind dann nur noch in der Lage, ein Fauchen oder Schnauben von sich zugeben.

Im Zoo nimmt das Junge ab der zwölften Lebenswoche den angebotenen Futterbrei auf und ist mit sechs Monaten so selbständig, dass es von der Mutter getrennt werden kann (BARTMANN, *mündliche Mitteilung*).

## 2.2 Zyklusdiagnostik

### 2.2.1 Exfoliative Vaginalzytologie

Die exfoliative Vaginalzytologie ist eine zytologische Methode zur Bestimmung des Standes des Sexualzyklus mit einer sehr hohen diagnostischen Sicherheit bei Hündinnen und Katzen (WIESNER, 1991). Des weiteren dient sie der Beurteilung von hormonalen Einflüssen auf das Epithel bei Sterilität und bei Zyklusstörungen.

#### 2.2.1.1 Einteilung der Zyklusphasen bei der Hündin und der Katze

Die Hündin ist asaisonal monoestrisch und ihr Sexualzyklus wird in folgende Phasen eingeteilt:

*Präproöstrus*: Eine sehr kurze Phase, gekennzeichnet durch den ersten Östrogenanstieg im Zyklusverlauf, etwa drei Wochen vor Läufigkeitsbeginn.

*Proöstrus*: Mit einer Dauer von durchschnittlich 10 Tagen (3 bis 16 Tage).

*Östrus*: Mit einer Dauer von durchschnittlich 10 Tagen (4 bis 12 Tage).

*Metöstrus*: Mit einer Dauer von durchschnittlich 130 Tagen (100 bis 150 Tage).

*Anöstrus*: Mit einer Dauer von durchschnittlich 60 Tagen (30 bis 90 Tage).

Damit ist der Zyklus beim Hund mit einer Gesamtlänge von 180 bis 250 Tagen sehr variabel.

In der kurzen Phase des Präproöstrus, drei Wochen vor Beginn des Proöstrus, steigen die Östrogenwerte im Zyklusverlauf erstmalig an. Diese Phase ist sehr kurz und Ausdruck des beginnenden Follikelwachstums (JÖCHLE, 1976).

Der erste Tag des Proöstrus ist der Tag an dem Läufigkeitssekret aus der Vulva austritt. Das Sekret ist zunächst rot, später fleischwasserähnlich gefärbt. In dieser Zeit zeigen die Rüden bereits Interesse, werden jedoch bei Paarungsversuchen noch abgewiesen. Im vaginoskopischen Befund erscheint die Schleimhaut feucht glänzend. Im Verlauf vom frühen zum späten Proöstrus ändert sich die Farbe von rosarot zu blassrosa. Durch die

vermehrte Ödematisierung und die starke Proliferation des Epithels treten deutliche Längs- und Querfalten auf.

Die endokrine Situation stellt sich wie folgt dar:

Der Proöstrus ist die *Follikelwachstumsphase*, in der die Östrogenkonzentration im Blut kontinuierlich ansteigt. Der Gipfel der Östrogenbildung liegt im späten Proöstrus am Übergang zum frühen Östrus. Im Vergleich zu anderen Tierarten sind die Genitalorgane der Hündin außerordentlich empfindlich gegenüber Östrogenen. Beim Hund scheinen die Östrogene nicht an Trägerproteine gebunden zu sein, womit alle gebildeten Östrogene frei verfügbar sind (JÖCHLE, 1976). Ebenso empfindlich auf Östrogene reagiert laut JÖCHLE (1976) das blutbildende Gewebe, was zu Blutungen und Anämie führen kann. Seiner Meinung nach hat diese Idiosynkrasie möglicherweise evolutionär zur Entwicklung dieses eigentümlichen Zyklus beigetragen.

Im späten Proöstrus nimmt der Gehalt von LH im Blut rasch zu. Dabei erreicht LH Gipfelwerte von 20 bis 60 ng/ml, um binnen zwei bis drei Tagen auf Basiswerte von 2 bis 3 ng/ml abzufallen. Für den Zyklus der Hündin ist dieses präöstrale LH-Maximum am Übergang zum Östrus charakteristisch (TAMMER et al., 1994). Die LH-Amplituden sind unmittelbar nach der Ovulation und während der frühen Diöstrusphase am niedrigsten. Der Konzentrationsabfall wird deutlich in der Zeit des Proöstrus bis kurz nach Beginn des Östrus. Ein erneuter Anstieg kann dagegen ab dem frühen Diöstrus bis zum späten Anöstrus beobachtet werden (HOFFMANN et al., 1996 und 1999).

Die Werte für das FSH erhöhen sich bereits im späten Anöstrus. Im Proöstrus werden Konzentrationen von  $167,0 \pm 36,9$  ng/ml gemessen, sie sinken langsamer als das LH (ARBEITER, 1994).

Der erste Tag des Östrus (*Periovulationsphase*) beginnt mit der Duldungsbereitschaft der Hündin. Es kann anfangs noch eine fleischwasserfarbene, in der Regel jedoch klare vaginale Sekretion erfolgen.

Die Vaginalschleimhaut ist im Östrus blass bis anämisch, trocken und kopfsteinpflasterartig aufgeworfen (TAMMER et al., 1994).

Mit der Umbildung der östrogenproduzierenden Wand der Follikel in progesteronbildende Schichten (*Übergangsphase*) sinkt die periphere

Östrogenkonzentration korrespondierend und abrupt mit dem vorübergehend steigenden LH-Spiegel (GÜNZEL, 1984; TAMMER et al., 1994). Danach nehmen die Progesteronwerte kontinuierlich vom ersten Tag des Östrus bis zum Zeitpunkt der Ovulation bis auf 9 ng/ml Plasma zu. Das am Übergang vom Proöstrus zum Östrus gebildete LH-Maximum ist indirekt erforderlich für die anschließenden Kontinuität des Östruszyklus und die Induktion der Ovulation (KLEIN et al., 2003).

Für den Hund ist der LH-angefasste präovulatorische Anstieg des Progesterons spezifisch. Die Ovulation ist bei den Caniden proportional vermittelt und erfolgt bei allen herangereiften Follikeln, mit Ausbildung der Corpora lutea, gestaffelt zum Ende des Östrus hin (TAMMER et al., 1994). Laut ARBEITER (1994) erfolgen die Ovulationen bei der Hündin 36 bis 48 Stunden nach dem LH-Gipfel. Dies ist klinisch bedeutsam für die Ermittlung des optimalen Deckzeitpunktes. Andere Autoren geben einen weiteren Zeitraum für die Ovulation beim Hund an. Untersuchungen von HOFFMANN (1999) ergaben, dass 70% der Follikel sogar in den ersten 24 bis 72 Stunden nach dem LH-Peak ovulieren.

Die Duldungsbereitschaft der Hündin erfolgt bei niedriger Östrogenkonzentration und peripher ansteigenden Progesteronwerten (BOSTEDT, *mündliche Mitteilung*). Damit nimmt die Hündin eine Sonderstellung unter den Haustieren ein (GÜNZEL, 1984).

Der Metöstrus, beginnend mit dem letzten Tag der Duldungsbereitschaft, ist die *Lutealphase*, in der es zum weiteren Anstieg der Progesteronkonzentration kommt. Vom 15. bis zum 30. Tag nach der Ovulation erreicht der Progesteronspiegel sein Maximum und steigt auf 40 bis 60 ng/ml. Dieser Anstieg verläuft bei graviden und nicht graviden Tieren annähernd gleich (TAMMER et al., 1994). Bis zum 90. Tag nach Ovulation fallen die Werte wieder ab.

In der Metöstrusphase kann noch zwischen der Corpus luteum-Anbildungsphase (früher Metöstrus), bis zum 30. Tag nach Ovulation und der Corpus luteum-Rückbildungsphase (später Metöstrus), 30. bis 90. Tag nach Ovulation, unterschieden werden (GÜNZEL, 1984). Der Metöstrus umfasst die Phase der Rückbildungsprozesse am Vaginalepithel, der Umstellung am

Endometrium und am Corpus luteum (RIECK, 1955). Es ist keine oder allenfalls eine milchig-wässrige Sekretion zu beobachten. Die Schleimhaut der Vagina ist rosarot, glänzend und liegt in Längsfalten.

Der Anöstrus, die *endokrine Ruhephase*, ist die Periode der sexuellen Inaktivität. Es sind keine zyklusspezifischen Veränderungen zu beobachten.

Die Länge der Anöstrus-Phase kann sehr stark variieren, wobei rassebedingte Unterschiede bestehen. Jedoch ist die Länge dieser Phase in einem Individuum konstant (HOFFMANN et al., 1999; KLEIN et al., 2003).

Die Vaginalschleimhaut zeigt Längsfältelung und ist glänzend rosarot gefärbt. Es findet eine langsame Vorbereitung auf den nächsten Östrus statt.

Das FSH zeigt während des Verlaufs der Anöstrusphase wahrscheinlich keine biologische Aktivität. Ein Anstieg des Wertes erfolgt erst gegen Ende des Anöstrus und zwar vor dem Anstieg der LH-Konzentration. Der Hauptfaktor für die Wiederaufnahme der vollen Ovar-Aktivität ist der Anstieg des FSH bevor die Werte des LH ansteigen (HOFFMANN, 1996).

**Tabelle 1: Darstellung von Zyklusstadium und entsprechender endokriner Phase nach TAMMER und Mitarbeiter (1994)**

Präproöstrus	Proöstrus	Östrus	Metöstrus	Anöstrus
↑	↑	↑	↑	↑
↑	↑	↑	↑	↑
<b>Erster</b>	<b>Follikel-</b>	<b>Follikelrei-</b>	<b>Lutealphase</b>	<b>endokrine</b>
<b>Östrogen-</b>	<b>anbildungs-</b>	<b>fungsphase</b>		<b>Ruhephase</b>
<b>anstieg im</b>	<b>phase</b>	<b>und</b>		
<b>Zyklusver-</b>		<b>Duldungs-</b>		
<b>lauf</b>		<b>reflex</b>		

Der Sexualzyklus der Katze ist saisonal polyöstrisch und dauert in Kontinentaleuropa von Januar bis Juli, in Abhängigkeit von der Tageslichtlänge. Die restliche Jahreszeit verharret die Katze im Anöstrus (HAENISCH, 1980). Bei konstanter Lichteinwirkung von 12 Stunden täglich bleiben die Ovarien jedoch das ganze Jahr hindurch aktiv (ARBEITER, 1994). Die Zykluslänge beträgt unter der Bedingung der Anovulation 14 bis 28 Tage (mit Follikelregression), pseudogavid 40 bis 50 Tage (mit Gelbkörperanbildung). Die Ovulation erfolgt provoziert oder induziert zirka 24 bis 30 Stunden nach dem Deckakt. Die angebildeten Follikel atresieren, sofern keine Ovulation erfolgt. Nach 1 bis 2 Wochen setzt ein neuer Zyklus ein (ARBEITER, 1994).

Der Zyklus der Katze teilt sich auf wie folgt:

*Proöstrus*: Länge von 1 bis 3 Tagen. Die durchschnittliche Dauer beträgt 48 Stunden.

*Östrus*: Der Östrus erstreckt sich über 5 bis 12 Tage.

*Interöstrus*: Eine Phase der sexuellen Ruhe. Das Intervall zwischen den Östrusperioden beträgt in der Regel 9 Tage, aber auch kürzere und wesentlich längere Abstände werden beobachtet.

*Pseudogavidität*: Gelbkörper mit einer Lebensdauer von etwa 30 bis 40 Tagen prägen das Erscheinungsbild dieser Phase. Nach dem Abbau der Corpora lutea wird ein neuer Sexualzyklus eingeleitet.

Im *Proöstrus* reifen die Follikel unter dem Einfluss des FSH heran. Die heranwachsenden Follikel produzieren Östrogene, wodurch Basiswerte im peripheren Blut auf 20 pg/ml ansteigen. Die Raunze beginnt, aber die Katze duldet in dieser Phase noch nicht die Annäherung des Katers.

Das Raunzeverhalten intensiviert sich in der Phase des *Östrus* und die Katze duldet den Nackengriff und das Aufsteigen des Katers. Korrespondierend zum Verhalten erreichen die Östradiolwerte Höchstkonzentrationen von durchschnittlich 50 bis 70pg/ml (bis 200 pg/ml). Dann stellt sich auch bei der Katze die vollständige Deckbereitschaft ein. Bereits 2 bis 5 Stunden nach dem Gipfel fallen die Werte auf Basalniveau (8 bis 20 pg/ml).

Etwa eine Stunde nach der Bedeckung steigen die LH-Werte steil an. Dieser Anstieg ist Voraussetzung für die Ovulation und Freisetzung der Ova und benötigt als Impuls den Deckakt (ARBEITER, 1994). Die Ovulationen erfolgen



etwa 50 Stunden nach dem LH-Gipfel. In Abhängigkeit von der Deckintensität erfährt das LH eine Frequenzsteigerung (STEINETZ et al., 1987).

Mit dem *Interöstrus* folgt eine Phase der sexuellen Ruhe, wenn eine Belegung ausbleibt und die Follikel atresieren. Im Mittel beträgt die Länge dieser Phase 9 Tage, aber auch kürzere und deutlich längere Interöstren sind möglich. Der Interöstrus kann auch ganz ausfallen und die Östruszyklen laufen ohne Unterbrechung hintereinander ab. Es kommt zum Erscheinungsbild der „Dauerraunze“.

Nach einem sterilen Deckakt oder einer ovulationsauslösenden Genitalreizung stellt sich die *Pseudogravidität* ein. Es bilden sich in dieser Phase Gelbkörper an, die nach einer durchschnittlichen Lebensdauer von 30 bis 40 Tagen wieder abgebaut werden. Unter dem Einfluss der Corpora lutea kann eine Lactatio sine graviditate ausgelöst werden. Sie kann von einer hochgradigen Mammazubildung und der Neigung zur Mastitis dominiert werden (ARBEITER, 1994). Der Hormonverlauf ähnelt der einer trächtigen Katze.

Mit dem Abbau der Gelbkörper endet die Phase der Pseudogravidität und ein neuer Zyklus wird eingeleitet.

#### **2.2.1.2      Aufbau und Histologie des vestibulo-vaginalen Abschnittes**

Das Vestibulum vaginae, der Scheidenvorhof, ist während der Organogenese aus dem ventralen Abschnitt der Kloakenanlage entstanden. Dieser Abschnitt stellt die unmittelbare Fortsetzung der Scheide dar und zugleich mündet die Harnröhre in ihn ein. Dadurch wird er zum gemeinsamen Harn-Geschlechtsgang, dem Sinus urogenitalis (NICKEL, SCHUMMER und SEIFERLE, 1987). Der Sinus urogenitalis lässt sich in drei Abschnitte unterteilen: die Pars vesicalis, die Pars pelvica und die Pars phallica. Die Pars phallica bleibt beim weiblichen Tier sehr kurz, sie erweitert sich jedoch stark und bildet das *Vestibulum vaginae*, den Scheidenvorhof (SCHNORR, 1989). Aus Epithelsprossen bilden sich die Glandulae vestibulare. Sie sind in die vestibuläre Lamina propria eingelagert.

Die Höhe der Schleimhautfalten nimmt im Vestibulum vaginae im Vergleich zur Vagina ab. Die Anzahl muzigener Zellen im Epithel verringert sich in Richtung des kaudalen Bereiches und sie verschwinden schließlich ganz. Die Zahl der Zellschichten steigt kaudalwärts an, bis das Epithel typisch mehrschichtiges plattes Aussehen hat. In Abhängigkeit vom Zyklusgeschehen kann eine mehr oder weniger starke Verhornung auftreten (LEISER, 1990). Diese ist jedoch im Zyklusverlauf weniger deutlich ausgeprägt als in der Vagina propria.

Die Grenze zwischen Vestibulum und Vagina wird eindeutig gekennzeichnet durch das *Ostium urethrae externum* (NICKEL, SCHUMMER und SEIFERLE, 1987). Die Vagina ist als die Vereinigung der distalen Enden der beiden Müllerschen Gänge aufzufassen (NICKEL, SCHUMMER und SEIFERLE, 1987). Die Vaginalwand gliedert sich in drei histologisch unterschiedliche Schichten, eine völlig drüsenfreie Tunica mucosa (Mukosa), eine Tunica muscularis (Muskularis) und eine Tunica adventitia (Adventitia). Die Adventitia hängt mit dem Beckenbindegewebe zusammen und stellt ein dichtes und festes Bindegewebe dar. Im kranialen Scheidengewölbe ist sie von Serosa bedeckt. Die Muskularis besteht aus einer inneren, dicken Kreis- und einer äußeren dünnen Längsmuskelschicht, in der gebündelte glatte Muskelzellen verlaufen. Die Mukosa ist gefaltet und besitzt ein glykogenreiches, mehrschichtiges Plattenepithel (HAENISCH, 1980; KÜHNEL, 1992).

Das mehrschichtige Plattenepithel gliedert sich in das Stratum germinativum, Stratum spinosum profundum, Stratum spinosum superficiale und Stratum corneum. Das Stratum germinativum und das Stratum spinosum profundum stellen laut HAENISCH (1980) Orte der Zellregeneration, die Zellen der anderen Schichten Differenzierungsstadien dar. Die Desquamation von Vaginalepithelzellen ins Lumen ist ein häufiges Phänomen, dabei verlieren die apikal am Epithel abgeplatteten Zellen ihre Bindung, die dort auf gegenseitiger Durchdringung von Fortsätzen beruht (LEISER, 1990). Sie lösen sich unter Aufhellung ihres Zytoplasmas vom Zellverband.

### 2.2.1.3 Grundlagen der Vaginalzytologie

Die Grundlage dieser diagnostischen Methode basiert darauf, dass sich das Vaginalschleimhautepithel unter dem Einfluss von Sexagenen (Östrogene und Gestagene) zyklisch verändert (RIECK, 1955; BADER, 1978; TAMMER et al., 1994). Durch Östrogene unterschiedlicher Syntheseorte proliferieren die Zellen der Vaginalschleimhaut. Es erfolgt eine Mitosesteigerung. Aus einem vier- bis sechsschichtigem entwickelt sich ein bis zu 20lagiges Epithel und auch das Zellwachstum an sich wird gesteigert. Das Vaginalepithel unterliegt einer ständigen Erneuerung und einer von der Hormonlage abhängigen Differenzierung. Der Wiederabbau des Epithels wird durch die Gestagene hervorgerufen. Dabei sind Ablösungsprozesse zu beobachten, wobei vornehmlich die oberen Epithelschichten betroffen sind (HAENISCH, 1980).

Je nach Herkunft aus den verschiedenen Epithelschichten und Reifegrad der Zellen (erreichter Differenzierungsgrad auf dem Weg vom Stratum germinativum zum Stratum superficiale) können charakteristische Zellarten und -formen zugeordnet werden, so dass das Vaginalepithel einen empfindlichen Indikator für die an den Ovarien ablaufenden zyklischen, hormonell gesteuerten Veränderungen darstellt (RIECK, 1955).

Erste Ergebnisse der exfoliativen Vaginalzytologie erarbeiteten PAPANICOLAOU (1917) beim Meerschweinchen, LONG und EVANS (1922) bei der Ratte, sowie ALLEN (1922) bei der Maus. FREI und METZGER (1926) stellten Abhängigkeiten der Zusammensetzung der Zellelemente im Vaginalabstrich beim Rind fest. Grundlagen der Zyklusdiagnostik beim Mensch sind von DIERKS (1927) und PAPANICOLAOU (1933) geschaffen worden.

Beim Haushund werden vaginalzytologische Untersuchungen mittels Abstrichen schon seit langer Zeit für die Zyklusdiagnostik herangezogen, da bei dieser Spezies die gravierendsten Veränderungen des Vaginalepithels im Ablauf eines Zyklus bestehen.

WHITNEY (1927), PAPANICOLAOU (1927) sowie BLAU, EVANS und COLE (1931) beschäftigten sich erstmals mit der Vaginalzytologie der Hündin.

In Deutschland waren es DEMEL und WITZIGMANN (1934) sowie RIECK (1955). Die Untersuchungsergebnisse wiesen jedoch anfänglich noch Lücken auf, da es Mängel bei den Färbemethoden gab.

ERICHSEN, NEWBERRY und GIER (1952) versuchten die Methode der Vaginalzytologie für klinische Zwecke bei der Hündin nutzbar zu machen. Dabei setzten sie die Färbemethode von PAPANICOLAOU und SHORR (1942) ein, die eindeutigere Differenzierungsmöglichkeiten der Oberflächenzellen zulässt.

Vaginalzytologische Untersuchungen bei der Katze wurden unter anderem von WASSERSTRASS (1964) durchgeführt. Sie färbte die entnommenen Abstriche nach der originalen Methode von PAPANICOLAOU an. STRASSER, BRUNK und BAEDER (1977), MILLS, VALLI und LUMDSEN (1979) sowie SCOTT und LLOYD-JACOB (1955) fertigten das Abstrichmaterial in ihren Untersuchungen mit einer modifizierten PAPANICOLAOU-Färbung an. Dagegen wurden von MOWRER, CONTI und ROSSOW (1975) im Rahmen von Routineuntersuchungen bei der Katze die GIEMSA-Lösung angewandt. Wegen des geringen Zeitaufwandes wurde von HERRON (1977) eine einfache Färbung mit verdünntem Methylenblau empfohlen.

Die Vaginalzytologie hat sich unterdessen bei der Hündin in Forschung und Praxis als eine gebräuchliche Untersuchungsmethode zur Optimierung von Zuchtvorhaben, zum Beispiel für die Deckzeitbestimmung und Überprüfung gynäkologisch-endokriner Störungen, etabliert (HAENISCH, 1980; TAMMER et al., 1994). Bei der Katze ist die Anwendung der Vaginalzytologie für die Deckzeitpunktbestimmung oder die der künstlichen Befruchtung stark eingeschränkt, da die Entnahme der Probe bei der Katze schwierig und manchmal nur unter Narkose möglich ist.

#### **2.2.1.4 Vaginalzytologie bei der Hündin und der Katze als Basismodell**

Für die Hündin wird die funktionelle Zytodiagnostik routinemäßig eingesetzt und hat bei dieser Tierart eine hohe diagnostische Sicherheit. Die Gewinnung des Zellmaterials für die Vaginalzytologie ist schonend und problemlos.

Die Methode der Vaginalzytologie der Hündin gilt als nützlicher Indikator für die Ermittlung des Reproduktionsstatus und zur Bestimmung des optimalen Deckzeitpunktes (RIEK und KRATZHELLER, 1955; JEFFCOTE und LINDSAY, 1989; TAMMER et al., 1994). Die Veränderung des Vaginalepithels im Zyklusverlauf ist leicht zu ermitteln. Ein Zellwechsel der Epithelzellen wird während des Übergangs von Proöstrus zum Östrus am deutlichsten. Die fortschreitende Keratinisierung der Zellen dient als Schutz der Vaginalschleimhaut während der Kopulation (JEFFCOAT und LINDSAY, 1989) und ist gewöhnlich am auffälligsten vor dem Beginn des Proöstrus.

Für die genaue Deckzeitpunktbestimmung ist im ovulationsnahen Zeitraum eine tägliche Abstrichkontrolle unumgänglich. Regelmäßige Abstriche bei den Hündinnen, die zur Bedeckung anstehen, sind zudem sehr sinnvoll, da eine bakterielle vaginale Infektion zeitig diagnostiziert und bis zum Decktermin saniert werden kann (TAMMER et al., 1994). Als Begleitmaßnahme zur Ergänzung und Vereinfachung bietet sich ein Progesteron-(P4) Schnelltest an. Die Progesteron-Konzentration im peripheren Blut steigt bei der Hündin bereits vor der Ovulation signifikant an.

Bei der Katze kann laut CHRISTIANSEN (1984) die Vaginalzytologie nicht routinemässig wie bei der Hündin für die Ermittlung des optimalen Deckzeitpunktes oder des Zeitpunktes für die künstliche Befruchtung eingesetzt werden. Die Probennahme bei dieser Tierart ist sehr schwierig und oft nur unter Narkose möglich. Die fortschreitende Verhornung des Vaginalepithels ist nicht so deutlich wie bei der Hündin und ist somit nicht verwendbar, um den Einsatz des Östrus mit Sicherheit anzuzeigen. In 32% von 168 untersuchten Zyklen befinden sich die Katzen bereits in der Östrus-Phase, bevor die Verhornung der Epithelzellen offensichtlich wird. In

Kombination mit anderen Methoden ist die Vaginalzytologie jedoch sehr nützlich, um den Östrus zu verifizieren.

### **Die Probennahme bei der Hündin**

Folgende Geräte werden für die Entnahme der Schleimhautzellen bei der Hündin benötigt:

Ein Spreizspekulum nach Kilian oder ein Röhrenspekulum, ein Probeträger (wahlweise ein Wattetupfer oder eine Drahtöse), ein Objektträger und entsprechende Färbelösungen nach Papanicolaou-Shorr oder Eosin-Thiazin, beziehungsweise Testsimplets®.

Entnahmetechnik:

Nach Reinigung und Desinfektion des perivulvären Bereiches werden die Labien der bei der Untersuchung stehenden Hündin gespreizt. Das Spreizspekulum nach Kilian, beziehungsweise wahlweise ein angewärmtes und angefeuchtetes, kurzes Röhrenspekulum, wird zunächst senkrecht nach dorsal, dann waagrecht nach kranial eingeführt. Das Spreizspekulum wird geöffnet, wenn es in seiner ganzen Länge eingeführt ist. Dann kann die Tupferprobe erfolgen. Der Abstrich wird im kaudalen Drittel der Vagina im Gebiet der Fornix entnommen. Mit einer drehenden Bewegung wird der Tupfer von kranial nach kaudal über die Schleimhaut geführt. Bei der Gewinnung von Probematerial mit einer Platinöse lässt sich nicht vermeiden, tiefere Schichten des Vaginalepithels zu erfassen. Die Beurteilung wird jedoch davon nicht beeinflusst (RIECK et al., 1955). Dabei soll der mit steriler Kochsalzlösung angefeuchtete Tupfer (STRASSER, 1971; GÜNZEL et al., 1984 und 1985; CHRISTIANSEN, 1984; ARNOLD, 1994; WOLLRAB, 1997) (oder die Drahtöse) möglichst in dem vom Spekulum gebildeten Kanal eingeführt werden, um den Kontakt des Probenträgers mit der Schleimhaut aus weiter kaudal gelegenen Abschnitten zu vermeiden (TAMMER et al., 1994).

Durch eine Kontamination des Watteträgers mit Pilzsporen, Urinkristallen, Kristallen von Talkum-Puder oder Erythrozyten durch Verletzungen des Vaginalepithels, können eventuell Fehldiagnosen folgen. Aus diesem Grund

sollte die korrekte Probenahme immer mit einem Vaginoskop erfolgen (CHRISTIANSEN, 1984).

Die entnommene Zellprobe wird anschließend mit dem Wattetupfer auf dem Objektträger abgerollt, nicht ausgestrichen. Mit der Drahtöse entnommenes Zellmaterial wird durch kreisende, ausstreichende Bewegungen auf den Objektträger aufgetragen (TAMMER et al., 1994). Bereits an dem Nativpräparat können grobe Aussagen zu dem aktuellen Zyklusstand getroffen werden.

Nach dem Trocknen des Objektträgers kann die Färbung erfolgen.

Wenn die Fixierung des Abstriches um einige Zeit nach dem Trocknen der Zellen verzögert stattfindet, können anschließend bei der Trichrom-Färbung die Zellen als geschwollene, pink- bis orangefarbene homogene Masse erscheinen. Die Interpretation des Abstriches kann dadurch erschwert werden (CHRISTIANSEN, 1984).

### **Die Probennahme bei der Katze**

Bei der Katze muss die Probennahme mit großer Vorsicht erfolgen, da die Vagina bei dieser Tierart mit einer Länge von zwei Zentimetern sehr kurz und die Verletzungsgefahr groß ist. Zudem kann durch die Einführung des Probeträgers die Ovulation ausgelöst werden. Eine weitere Voraussetzung ist eine gute Fixierung oder eine Sedierung des zu untersuchenden Tieres (CHRISTIANSEN, 1984). Die Methodik der Abstrichnahme bei der Katze wird unter anderem von DREIER (1985) beschrieben. Seiner Meinung nach kann die vaginale Inspizierung und Probennahme nur am sedierten Tier vorgenommen werden, da möglicherweise die Verletzungsgefahr durch Abwehrbewegungen zu hoch ist.

Die Labien werden mit Daumen und Zeigefinger gespreizt und eine ausgeglühte mit steriler physiologischer Kochsalzlösung befeuchtete Drahtöse nur zwei Zentimeter weit in das Vestibulum eingeführt. Mit zartem Druck auf die Öse wird der Abstrich von kranial nach kaudal entnommen. Nach Auftragen auf dem Objektträger wird die Probe fixiert (entweder mit einem Äther-Alkohol-Gemisch, mit Fixierspray, durch Lufttrocknen oder

Hitze). Für die Färbung können dieselben Methoden wie beim Hund angewandt werden. In 100 bis 400facher Vergrößerung werden die Abstriche meanderförmig durchgemustert und 100 bis 200 Zellen beurteilt. Als diagnostisches Hilfsmittel wird der Azidophilie-Index herangezogen, also wie viele von 100 Zellen eine rote Tinktion besitzen.

### **Darstellung der verschiedenen Färbemethoden:**

#### *a) Färbung nach PAPANICOLAOU-SHORR (1942)*

Diese Färbung ist mit einer Dauer von 30 bis 45 Minuten relativ zeitaufwendig und daher unter Praxisbedingungen nur schwer realisierbar.

Die Fixierung erfolgt zwanzig Minuten in einem Äther/Alkohol-Gemisch (1:1). Anschließend wird der Objektträger jeweils 15 Mal in

Alkohol (absolut)

Alkohol 80%

Alkohol 70%

Alkohol 50%

Aqua dest. geschwenkt.

Nach sechs Minuten Färbezeit mit Hämatoxin, kann der überschüssige Farbstoff schlierenfrei unter Leitungswasser abgespült und der Objektträger eine Minute in Ammoniak-Alkohol eingelegt werden.

Die Färbezeit in der Shorr-Farblösung beträgt zwei Minuten. Dann erfolgt erneut das Schwenken des Objektträgers jeweils 15 Mal in den folgenden Reagenzien:

Aqua dest.

Alkohol 50%

Alkohol 70%

Alkohol 80%

Alkohol (absolut)

Zum Abschluss muss er einige Minuten in Xylol belassen und zur dauerhaften Fixierung des Abstrichmaterials in Eukitt eingebettet werden.



Diese polychrome Färbung ist geeignet, die funktionelle Verhornung des Zytoplasmas der Epithelzellen hervorzuheben. So wird im Verlauf der Follikelphase die erfolgende chemische Metaplasie der Plasmaproteine der Oberflächenzellen färberisch dargestellt, wobei folgende Färbungen entsprechende Perioden des Zyklus zuzuordnen sind (RIECK, 1955).

Infolge ihrer Azidophilie, also ihrer Affinität zu sauren Farbstoffen, heben sich Zellen mit abgeschlossenem Keratinisierungsprozess des Protoplasmas selektiv hervor und färben sich leuchtend rot an. Alle anderen Epithelzellen, auch die unverhornten und verhornenden, färben sich infolge ihrer Basophilie blau.

*b) Eosin-Thiazin-Färbung (Hemacolor®, Merck)*

Diese Färbung hat eine Zeitdauer von drei Minuten und ist daher für die Schnelldiagnostik besser geeignet.

Der Objektträger wird fünf Mal in der Fixierlösung geschwenkt und anschließend jeweils zehn Mal in Eosin und Thiazin. Die Färbelösungen werden mit Leitungswasser abgespült und nach Trocknung kann der Objektträger in Eukitt eingebettet werden.

Mit dieser Färbemethode ist eine Differenzierung der Epithelzellen aufgrund unterschiedlicher Anfärbbarkeit allerdings nicht möglich. Alle vorkommenden Zellen sind blau-violett gefärbt. Daher kann die Zyklusbestimmung, im Gegensatz zur Färbung nach PAPANICOLAOU-SHORR, nur anhand der Zellformen- und arten geschehen. Erythrozyten lassen sich jedoch etwas deutlicher anfärben als bei der PAPANICOLAOU-SHORR-Färbung.

### c) Testsimplets®

Testsimplets® sind gebrauchsfertige, farbbeschichtete Objektträger, die neben der Differenzierung der Epithelzellen auch eine Beurteilung des Ausstrichhintergrundes erlauben. Damit kommt ihnen eine zusätzliche Bedeutung für die Unterscheidung der Zyklusphasen zu (GÜNZEL, 1984).

Der mit steriler Kochsalzlösung angefeuchtete Watteträger wird nach Entnahme von Probematerial auf dem Objektträger abgerollt, dieser zwei Minuten an der Luft getrocknet und anschließend mit Merckofix-Fixierspray oder wahlweise mit Haarspray aus 15 bis 20 Zentimetern Entfernung besprüht bis er sich blau färbt. Fünf bis zehn Minuten Trocknungszeit später erfolgt die Spülung des Testsimplets® unter fließendem Wasser bis zur Entfärbung. Nach erneutem Lufttrocknen kann der Abstrich unter dem Mikroskop beurteilt werden.

#### 2.2.1.5 Vaginalzytologische Befunde bei der Hündin

Nachfolgend werden die Zellbilder der einzelnen Zyklusphasen beschrieben.

##### *Proöstrus – Östrus (Follikelphase):*

In der Follikelphase kommt es durch die verstärkte Östrogenproduktion zur Proliferation des Vaginalepithels und Keratinisierung der Oberflächenzellen. Tiefgreifende hypertrophische und hyperplastische Vorgänge finden nur in dieser Phase statt.

##### *Proöstrus:*

Durch die Proöstrusblutung sind massenhaft Erythrozyten im Zellbild zu finden. Diese entstammen dem Uterus, dessen Schleimhaut beim Hund während des Proöstrus durch maximale Hyperämie gekennzeichnet ist (HAENISCH, 1980). Es handelt sich hierbei um eine Diapedeseblutung. Nach den Beobachtungen von CHRISTIANSEN (1984) kann die Erythrozytenausschwemmung bis in die Östrusphase reichen und im Abstrich

nachgewiesen werden. Oft kann dies dann nur noch in Spuren vorkommen, wobei es zu individuellen Unterschieden kommt (RIECK et al., 1955).

Vorherrschend sind in dieser Phase in erster Linie zahlreiche Superfizialzellen. Ihr Anteil im Zellbild steigt plötzlich auf 40 bis 60% des Gesamtzellinhalts an (RIECK et al., 1955). Nur noch in geringem Maß tauchen Intermediär- Parabasal- und Basalzellen auf. Schollen sind nur vereinzelt zu sehen (TAMMER et al., 1994).

### *Östrus:*

Das Stratum superficiale proliferiert in der Follikelphase zu einem bis zu 20schichtigem Stratum corneum. Die fortschreitende Keratinisierung der Zellen dient als Schutz der Vaginalschleimhaut während der Kopulation (JEFFCOAT und LINDSAY, 1989). Der Übergang vom Proöstrus zum Östrus ist fließend und zeichnet sich durch die Zunahme von für diese Phase charakteristischen, differenzierten Superfizialzellen aus, deren Kern einer Degeneration unterliegt (Kernpyknose). Unter klinischen Bedingungen haben sich verschiedene Indices bewährt. Der sogenannte *Pyknose-Index* drückt die zunehmende Verhornung der Zellen in der Proöstrus-Östrus-Phase aus. Dabei wird die Zahl der verhornten Zellen durch die Gesamtzahl der Epithelzellen dividiert und mit 100 multipliziert. Das Ergebnis wird in Prozent ausgedrückt und wenn der Anteil über 80% beträgt, wird der Deckzeitpunkt als sehr günstig bewertet. In Ovulationsnähe lassen sich fast ausschließlich (80 bis 90%) verhornte Superfizialzellen (Schollen) finden, die flach und einzeln auf dem Objektträger liegen. Die maximale Verhornung dauert ein bis sechs Tage, im Durchschnitt 2,6 Tage. 75% der Hündinnen ovulieren am Tag der maximalen Verhornung (TAMMER et al., 1994). Nach Abschluss der Ovulation sinkt die Zahl der Superfizialzellen schnell ab. Zellen tieferer Schichten, zum Beispiel Zellen des Stratum spinosum, kommen in diesem Stadium des Zyklus nicht vor. RIECK und Mitarbeiter (1955) vergleichen dieses Phänomen mit dem „reinen Schollenstadium“ der Nager.

Bei der Ermittlung des *Eosinophilie-Index* wird die Zahl der eosinophilen Zellen mit der Gesamtzahl der Epithelzellen verglichen. Liegt dieser über 60%, ist der Deckakt am erfolgreichsten.

Wenn die Zahl der Superfizialzellen durch die Zahl der Zellen aus den tieferen Zellschichten dividiert und mit 100 multipliziert wird, kann der sogenannte *Superfizialzellen-Index* bestimmt werden. Dieser Wert ist im Proöstrus mit 70% am höchsten.

Die Vaginalzytologie erlaubt nicht die exakte Festlegung des Zeitraumes des klinischen Östrus, aber dadurch ist es möglich, den Verlauf der Follikelphase eindeutig zu verfolgen und auch ihr Ende innerhalb eines eingeschränkten Zeitraumes zu bestimmen. RIECK und Mitarbeiter (1955) betrachten den Höhepunkt der vaginalen Follikelphase gleichzeitig als den Abschluss der ovariellen Phase und identifizieren ihn mit der Periode der Ovulationen. Es muss dabei mit dem „Hinterherhinken“ der Reaktion der Vaginalschleimhaut auf das Aufhören der Follikelhormonwirkung hinter den Ovulationen gerechnet werden. Es handelt sich laut Autoren jedoch nur um geringe zeitliche Differenzen zwischen Ovulationen und der Beendigung der vaginalen Follikelphase.

Ein bis vier Tage vor dem Höhepunkt der vaginalen Follikelphase, also in der späten Follikelphase, ist der Duldungsreflex bei der Hündin voll ausgeprägt. LINDE und KARLSSON untersuchten 1984 die Korrelation zwischen den vaginalzytologischen Befunden bei der Hündin und dem Zeitpunkt der Ovulation. Sechs Tage vor bis sechs Tage nach der maximalen Keratinisierung wurde eine Blutanalyse durchgeführt. Alle untersuchten Hündinnen wiesen die maximale Keratinisierung des Epithels drei Tage nach dem proöstrischen Östrogen-Peak auf. In 70,8% der Fälle ist zu dem Zeitpunkt das Ovulationslevel erreicht, wenn die Konzentration des Plasma-Progesterons bis auf 9 ng/ml ansteigt.

Das Wiedererscheinen von Leukozyten im Vaginalabstrich nach Beendigung der Follikelphase wird mit der stattgehabten Ovulation in Verbindung gebracht. Die Zeit zwischen Höhepunkt der vaginalen Follikelphase und dem Wiederauftreten von Leukozyten variiert von 24 Stunden bis zu sieben Tagen (RIECK et al., 1955). ARNOLD (1994) beobachtete das Auftreten der Leukozyten, die am Regenerationsvorgang bei der Abschilferung des Stratum corneums beteiligt sind, am zweiten bis vierten Tag des Östrus im Abstrichbild. Die verhornten Zellen erscheinen zu diesem Zeitpunkt in Verbänden.

### *Übergang vom Östrus zum Metöstrus*

Der Übergang vom Östrus- zum Metöstrus-Zellbild geht nicht einher mit dem Ende der Östrus-Periode, aber er kann darauf hindeuten (JEFFCOAT und LINDSAY, 1989). Das Erscheinen des Metöstrus-Zellbildes wird gesteuert durch steigende Progesteronkonzentrationen im Plasma (TAMMER et al., 1994). Zu dem Charakter des Metöstrus-Zellbildes wurden von JEFFCOAT und Mitarbeitern (1989) individuelle Unterschiede bei den Hündinnen festgestellt.

### *Metöstrus:*

Unmittelbar an die Ovulationsperiode schließt sich die Corpus luteum-Phase an. Da aber der Östrus noch einige Tage über die Follikelphase hinaus in die Luteinphase hineinreicht, divergieren beide im frühen Abschnitt dieses Stadiums (RIECK et al., 1955).

Der schnell erfolgende Abbau des Stratum corneums beherrscht in der Frühphase das Zellbild.

Durch bakterielle und proteolytische Zersetzungsprozesse erscheinen die Oberflächenzellen als amorphe Masse („Detritusmasse“).

Im frühen Metöstrus sind Schaumzellen, also modifizierte Parabasalzellen, welche im Zytoplasma Vakuolen aufweisen, zu finden. Bei den Metöstruszellen handelt es sich um Epithelzellen, die im Zytoplasma neutrophile Granulozyten einschließen. Die Zellen sind oft so vollgestopft mit Leukozyten, dass der Kern der „Wirtszelle“ eingedellt oder arrodirt ist. Leukozyten dringen aufgrund ihrer proteolytischen Fähigkeiten in die Epithelzellen aller Schichten ein (RIECK et al., 1955). Diese Zellformen können als charakteristisch für die Metöstrusphase bezeichnet werden. Ihr Anteil am Gesamtzellbild kann zwischen 2 und 15% betragen.

Nachweisbar sind im Metöstrus Granulozyten, Superfizial-, Intermediär- und Parabasalzellen in unterschiedlichen Mengen. Dabei steigt mit fortschreitendem Metöstrus der Anteil an Granulozyten, Intermediär-Parabasal- und Basalzellen an, der Anteil an Superfizialzellen nimmt gleichermaßen ab.

Anöstrus:

Das Vaginalepithel ist im Anöstrus sehr niedrig und somit ist der Abstrich sehr zellarm. Je nach angewandtem Druck des Probeträgers auf die Vaginalschleimhaut werden immer auch Zellen aus tieferen Schichten erfasst. Typisch ist somit die große Mannigfaltigkeit der Zelltypen in diesem Zyklusabschnitt (RIECK et al., 1955).

Vorwiegend sind Basal-, Parabasal- und tiefe Intermediärzellen mit ihren Übergangsformen zu erkennen. Laut RIECK und Mitarbeitern (1955) liegt der Anteil der Basal- und Parabasalzellen bei zwei bis fünf Prozent, die Menge der Übergangsformen zwischen Parabasal- und Intermediärzellen steigt dagegen auf 25 bis 75%. Die Zahl der Superfizialzellen ist mit zwei bis zehn Prozent sehr gering. Einen sehr niedrigen Anteil nehmen die neutrophilen Granulozyten ein.

Die Färbemethode nach PAPANICOLAOU eignet sich besonders gut, um die im Verlauf der Zyklusphase erfolgende chemische Metaplasie der Plasmaproteine der Oberflächenzellen coloriert darzustellen (RIECK et al., 1955). Infolge ihrer Azidophilie, also ihrer Affinität zu sauren Farbstoffen, heben sich Zellen mit abgeschlossenem Keratinisierungsprozess des Protoplasmas selektiv hervor und färben sich rot an. Alle anderen Epithelzellen, auch die unverhornten und verhornenden, färben sich infolge ihrer Basophilie blau.

Mit der Färbung nach PAPANICOLAOU-SHORR stellt sich das vaginalzytologische Bild in den einzelnen Zyklusphasen folgt dar:

Proöstrus (frühe Follikelphase):

Zunächst treten *basophile* (blau angefärbte) kernhaltige Superfizialzellen auf, wobei sich im weiteren Verlauf und zur Nähe des Östrus hin, der Anteil an *azidophilen* (rot angefärbten) Zellen vermehrt.

### Östrus (fortgeschrittene bis späte Follikelphase):

Im Östrus beherrschen die keratinisierten Superfizialzellen mit einem Anteil von 55-90 % für circa sechs bis zehn Tage das Zellbild. Sie sind *azidophil* und mithin deutlich rot gefärbt. Nach Abschluss der Ovulation sinkt ihre Zahl schnell ab. *Basophile* Superfizialzellen kommen nur in geringer Zahl vor und Zellen aus noch tieferen Schichten werden in diesem Stadium nicht gefunden. Der Kernpyknoseindex (KPI) bezeichnet das Verhältnis zwischen den Superfizialzellen mit Kernpyknose und den Intermediärzellen (HAENISCH, 1980):

$$KPI = \frac{\text{Superfizialzellen mit Kernpyknose \%} \times 100}{\text{Intermediärzellen \%}}$$

### Metöstrus (Luteinphase):

Die Anzahl der *basophilen* gereiften Superfizialzellen nimmt verstärkt zu. Massen von amorph erscheinenden *azidophilen* Superfizialzellen, die sogenannten „Detritusmassen“, können noch einige Tage nach Beginn dieser Phase gefunden werden.

### Anöstrus

Alle Zelltypen kommen in dieser Phase vor. Dabei ist der Anteil der Superfizialzellen mit zwei bis zehn Prozent relativ gering.

### 2.2.1.6 Vaginalzytologische Befunde bei der Katze

Vaginalzytologische Untersuchungen bei der Katze lieferten folgende Ergebnisse:

Im Proöstrus sind einige wenige größere Epithelzellen mit deutlichen Kernen zu erkennen und das Zytoplasma wird blasser (KLUG, 1969). Intermediär- sowie untere und obere Superfizialzellen sind zu etwa gleich großen Anteilen zu finden. Der Azidophilie-Index liegt in dieser Phase bei zirka 30%. Leukozyten, Schleimzellen, Schleim und ein erhöhter Keimgehalt werden nachgewiesen (DREIER, 1985). Die Zahl der Intermediärzellen nimmt im Verlauf dieser Phase zugunsten der Superfizialzellen ab. Zirka 60 % des Gesamtzellmaterials wird dann von den Superfizialzellen bestimmt, hiervon fallen 20 % auf kernlose Superfizialzellen. Parabasalzellen verschwinden im Verlauf des Proöstrus und sinken auf sehr niedrige Mittelwerte (0 bis 4%) im Östrus (HAENISCH, 1980).

Bei der Katze steigen die Östradiol-17 $\beta$ -Konzentrationen im Plasma in der frühen Follikelphase an, dies führt zu einer Verflüssigung des Vaginalepithels und zu einer fortschreitenden Ausreifung und Verhornung der oberflächlichen Epithelschichten. Der Anteil der verhornten Zellen nimmt zu. Mit einer Verzögerung von drei bis vier Tagen, also Tag vier bis sieben der Follikelphase, erfolgt der Anstieg der verhornten Zellen (GÜNZEL et al., 1985).

In der Phase des Östrus kann bei der Katze stets ein erhöhtes Zellvorkommen nachgewiesen werden, auffällig ist die stark reduzierte Anzahl von Parabasalzellen. Der Anteil der Superfizialzellen macht zirka 80 % des Zellmaterials aus, dabei überwiegen die kernlosen Superfizialzellen. (HAENISCH, 1980). Die Literaturangaben über das für die Katze typische Zellbild im Östrus sind sehr widersprüchlich. WASSERSTRASS (1964) fand auf dem Höhepunkt der Follikelphase fast ausschließlich kernlose, azidophile Schollen, ähnlich wie bei kleineren Nagetieren. In der von STRASSER (1971) beschriebenen Untersuchung wurde dieses Phänomen ebenfalls beobachtet, jedoch überwiegen hier in der Mehrzahl der Fälle im Differentialzellbild bei



weitem die nicht azidophilen Zellen. Dagegen sagt SCOTT (1967), dass in über 80% der Fälle azidophile addiert mit basophilen Superfizialzellen mit Kernpyknose überzählig sind. Laut KLUG (1969) beherrschen verhornende Zellen im Östrus das Bild. Das Zytoplasma wird azidophil und die Kerne zeigen beginnende Pyknose. Oft sind perinukleär helle Ringe (Halos) zu sehen. Der Azidophilie-Index liegt in dieser Zyklusphase bei 70% (DREIER, 1985).

Für die Katze ist die Klärung des Abstrich-Hintergrundes, also das Fehlen der Zelldetritusmassen, typisch für die Phase des Östrus. Die Aufklärung des Abstrichhintergrundes beginnt vor dem Einsetzen der Follikelphase und wird in den meisten Zyklen während des Verlaufs der Follikelphase offensichtlich (CHRISTIANSEN, 1984).

Im Verlauf des Metöstrus, also der Phase der Follikelregression, nehmen die reifen Zellformen zugunsten weniger ausgereifter Epithelzellen ab (HAENISCH, 1989). Die prozentuale Verteilung der Intermediär- und Parabasalzellen im Abstrich variiert dabei erheblich (GÜNZEL et al., 1985). Leukozyten sind für diese Phase charakteristisch und auch Schleim ist vermehrt nachweisbar. Der Azidophilie-Index ist mit 0 bis 30% gering (DREIER, 1985). Die exakte Bestimmung der Zyklusphase kann zusätzlich anhand von Verhaltensbeobachtungen und klinischen Untersuchungen gestellt werden (KLUG, 1969).

Im Anöstrus und Interöstrus findet man kleine, streng basophile Zellen, wenige größere epitheliale Zellen mit relativ großen Kernen und gelegentlich Leukozyten (KLUG, 1969). Der Prozentsatz der Intermediärzellen ist mit durchschnittlich 39% am höchsten. Parabasalzellen nehmen mit ca. 20 % einen geringen Anteil des Zellmaterials ein (HAENISCH, 1980).

Erythrozyten werden in keiner Zyklusphase gefunden. Nur in Fällen einer Vaginalinfektion (pathologischerweise) oder in der ganz frühen Follikelphase (physiologischerweise) können wenige ermittelt werden (GÜNZEL et al., 1985).

In folgender Tabelle wird der Charakter der Epithelzellen im Vaginalabstrich, der durchschnittliche prozentuale Anteil der Zellen und der ermittelte Superfizialzell-Index dargestellt.

**Tab. 2: Darstellung des Zellcharakters, der prozentualen Zellverteilung in den einzelnen Zyklusphasen und Superfizialzell-Index bei der Katze**

<b>Zellcharakter:</b>	<b>Basal- zellen</b>	<b>Parabasal- zellen</b>	<b>Intermediär- zellen</b>	<b>Superfizialzellen mit / ohne pyknotischem Zellkern</b>		
durchschnittliche Größe	12µm	19µm	<41µm	55µm	55µm	
Form	rund	rund-oval	polygonal	-	-	
durchschnittlicher Zellkern- durchmesser	8-10µm	8-10µm	10µm	6µm	-	
<b>Zyklusphase:</b>	<b>%</b>	<b>%</b>	<b>%</b>	<b>%</b>	<b>%</b>	<b>Super- fizialzell- Index:</b>
Proöstrus	einige	7,9	35,6	36,3	20,3	127
Östrus	-	0,5	20,4	33,6	45,8	400
früher Metöstrus	-	7,8	54,8	28,4	9,0	59
später Metöstrus	einige	23,0	56,7	15,9	4,9	25
Anöstrus	einige	20,5	39,3	21,4	18,6	67

Nach Meinung von GÜNZEL und Mitarbeitern (1985) kann bei der Katze bis auf die Follikelphase keine eindeutige Differenzierung der Zyklusphasen mittels Vaginalzytologie erfolgen.

Die Befunde bei pseudograviden und graviden Tieren weisen nur geringfügige Unterschiede auf (WOLLRAB, 1997).

### **2.2.1.7 Überblick über vaginalzytologische Untersuchungen bei den verschiedenen Spezies**

Die funktionelle Zytodiagnostik nimmt bei Rind, Pferd, Schwein und den kleinen Wiederkäuern eine untergeordnete Rolle ein, weil bei diesen Tieren das Vaginalepithel keinen so charakteristischen Veränderungen unterliegt; so bedingt die Zykluskontrolle auf dieser Basis gegenüber anderen Methoden wenig Vorteile.

#### Zoo- und Wildtiere

Bei in menschlicher Obhut gehaltenen Wildtieren hat sich die Vaginalzytologie nur teilweise als einsetzbare Methode durchsetzen können. Das liegt zum einen daran, dass es nicht bei jeder Tierart zu einer dominanten Veränderung des Vaginalepithels in Abhängigkeit zur Sexagenlage kommt. Zum anderen gestaltet sich die Entnahme der Proben oftmals problematisch, da in den meisten Fällen viele Wildtierarten nur in sediertem Zustand oder unter extremen Zwangsmaßnahmen untersucht werden können. Für die Tiere wäre die Stressbelastung zu groß. Eine exakte Zyklusbestimmung macht zudem eine tägliche Untersuchung erforderlich.

Nachfolgend werden jedoch einige Tierarten aufgezeigt, bei denen diese Methode Einsatz fand.

DURRANT und Mitarbeiter (2001) bestimmten mittels Vaginalzytologie den genauen Ovulationszeitpunkt beim *Großen Panda*. In dieser Studie wurden fünf Östruszyklen an zwei nulliparen Tieren kontrolliert. Die Abstriche wurden nach der Methode von PAPANICOLAOU angefärbt und die Zelltypen in Anlehnung an das Schema vom Hund, als Basal-, Intermediär- und Superficialzellen klassifiziert. Abhängig von der Anfärbbarkeit wurden basophile (blau), azidophile (pink) oder keratinisierte (orangefarben) Zellen unterschieden, ohne dabei den morphologischen Zellcharakter zu beachten.

Bei dem ersten Tier erfolgte die Probenahme wöchentlich über ein ganzes Jahr hinweg bis zum Januar. Ab dieser Zeit wurden bis zur Änderung der Schleimhautbeschaffenheit zweimal wöchentlich Abstriche gewonnen, anschließend dreimal in der Woche. Als der prozentuale Anteil der

Basalzellen auf unter 50% absank, wurden die Vaginalabstriche täglich entnommen. Die Abstrichnahme erfolgte dabei stressfrei durch operante Konditionierung des Pandas.

Bei dem zweiten Großen Panda gelang ebenfalls eine stressfreie Abstrichnahme während der Fütterungszeit. Dabei befand sich die Pandabärin in einem Zwangskäfig. Die Gewinnung des Probematerials erfolgte täglich nach den ersten Anzeichen der Brunst.

Bei der Ermittlung des genauen Ovulationszeitpunktes stellten die Untersucher zwei Wechsel der Chromaffinität der Zellen fest. Acht bis neun Tage vor der Ovulation erfolgte eine Änderung von der Basophilie zur Azidophilie, das heißt, dass zu diesem Zeitpunkt die azidophilen Zellen überwogen. Ein erneuter Umschwung wurde zwei Tage vor der Ovulation beobachtet. Dann dominierten die keratinisierten Zellen und die azidophilen Zellen gingen zahlenmäßig zurück.

Die Superfizialzellen aller Farben nehmen vom ersten Tag des Chromaffinitätswechsels zu und bleiben hoch bis nach der Ovulation. Während beim Haushund die Superfizialzellen auf bis zu 100% ansteigen, liegt beim *Großen Panda* ein Anstieg der Superfizialzellen auf 86% vor (DURRANT et al., 2001). Die Vaginalzytologie stellt somit zusammen mit dem Hormonprofil und den sichtbaren Anzeichen des Östrus, eine probate, minimal-invasive Methode dar, um beim Großen Panda den genauen Ovulationszeitpunkt zu bestimmen.

Weitere vaginalzytologische Untersuchungen führten DURRANT und Mitarbeiter (2001) unter anderem beim *Silberfuchs* durch. Bei dieser Tierart steigt die Zahl der Superfizialzellen vier bis zehn Tage vor der Paarung deutlich an. Am Tag der Paarung liegen sie bei 75-80%.

Auch beim *Schwarzfußiltis*, dem *Illis* und dem *Frettchen* beginnt der Proöstrus mit der Zunahme der Superfizialzellen. Während des Östrus erreichen sie Höchstwerte von 90% (DURRANT et al., 2001).

In dem Zellbild vom *Eisfuchs* steigen azidophile Zellen mit vesikulärem Zellkern von 1,8% (sechs Tage vor der Paarung) auf 46,2% an (ein Tag vor der Paarung). Die basophilen Zellen erfahren einen Anstieg von 2,1% (sieben Tage vor der Paarung) auf 34,3% (einen Tag vor der Paarung) (JAROSZ und BARABAS, 1980).

Am ersten Tag des Östrus kommt es beim *Syrischen Hamster* zu einer massiven Akkumulation von multiformen Epithelzellen. Am zweiten Tag sind nahezu alle nukleären Zellen verschwunden und Leukozyten tauchen auf. Nur noch Zelltrümmer und einige einzelne Leukozyten erscheinen am dritten und vierten Östrustag (SCHARMANN et al., 1988).

SANCHEN und Mitarbeiter (1988) führten vaginalzytologische Untersuchungen an *Damtieren* während des Östrus (Oktober bis März), des Anöstrus (April bis Dezember) und der Trächtigkeit im Verlauf eines Jahres durch.

Sie stellten eine Zunahme der Epithelzellen im Proöstrus fest, die ihren Maximalwert im Östrus erreichte. Nach dem Östrus nahm die Zahl der Epithelzellen wieder ab. Dabei ermittelten sie eine Zykluslänge von 20 bis 22 Tagen und stellten die Trächtigkeitsdiagnose ein bis zwei Monate nach der Belegung.

### 2.2.1.8 Auswertungskriterien

Entscheidend für die Beurteilung der Zellen im Vaginalabstrich sind Größe, Form, das Verhältnis zwischen Kern und Zytoplasma und das Vorhandensein von Kernsubstanz. RIECK (1955) beschreibt die Zellen des Vaginalepithels (gefärbt nach Papanicolaou) wie folgt.

*Basal- (Zellen des Stratum germinativum) und Parabasalzellen (Zellen des Stratum spinosum profundum):*

Rund und ovoid, glattrandig. Ihre Größe schwankt zwischen 14 x 14 µ bis 19 x 27 µ. Die Basalzellen sind kleiner als die Parabasalzellen.

Das Zytoplasma ist homogen, fein granuliert und färbt sich blau an. Es sind keine Vakuolen und keine Einschlüsse zu erkennen. Der Zellkern ist kugelförmig oder ovoid, feinkörniges, lockeres Chromatin ist vorhanden. Die Basalzellen haften der Basalmembran fest auf und werden unter physiologischen Bedingungen nicht abgeschilfert (HAENISCH, 1980).

*Tiefe Intermediärzellen:*

Sie stellen die Übergangsform von der Parabasalzelle zur Intermediärzelle dar. Sie besitzen ein homogenes, nicht vakuolisiertes Plasma und größere Kerne.

*Intermediärzellen (Zellen des Stratum spinosum superficiale):*

Die Intermediärzellen sind größer als die Basal- und Parabasalzellen. Ihre Form ist länglich-eiförmig und ein- oder beidpolig zugespitzt. Das Plasma kann sehr stark vakuolisiert sein, so dass eine schaumige Struktur entsteht, und die Kerne an den Rand gedrängt werden. Das Zytoplasma und die Kerne unterscheiden sich nicht in Struktur, Anfärbbarkeit und Größe von denen der bereits beschriebenen Gruppen.

Das Chromatin ist feinkörnig und enthält kleine Verdickungsbezirke.

*Superfizialzellen (Zellen des Stratum corneum):*

Mit einer Größe von 42 bis 58 µ sind sie wesentlich größer als die Intermediärzellen und stark abgeflacht. Ihre Form ist unregelmäßig polygonal,

glattrandig, und die Ränder biegen sich auf und sind gefaltet. Das Zytoplasma ist basophil und feingranuliert, es ist wenig transparent und kaum vakuolisiert. Der Kern unterscheidet sich nur wenig von den unteren Schichten, er ist ebenfalls groß und locker. Das Chromatin kann fein und grobklumpig zusammengeballt sein und in der frühen Follikelphase (Proöstrusbeginn) sind vereinzelt Kernwandhyperchromatose und seltener unvollständige Pyknosen zu erkennen.

Im Verlauf der Follikelphase treten vermehrt gereifte (differenzierte) Superfizialzellen auf, mit vollständiger Kernpyknose, die sogenannten *Schollen*. Diese beherrschen in der späten Follikelphase bis zu 90% das Gesamtzellbild. Mit der Färbung nach PAPANICOLAOU färben sich die azidophilen Zellen leuchtend rot an. Sie können als helle zentrale Zone die Kontur des zugrundegegangenen Kernes noch erkennen lassen.

CHRISTIANSEN (1984) erläutert die Zellformen und -größen der Vaginalepithelzellen nach der Trichrom-Färbung wie folgt:

*Schollen*: Es handelt sich um anukleäre Zellen, also keratinisierte Superfizialzellen ohne Kern, mit einer Größe von 30 bis 60 µm.

*Große Superfizialzellen* sind polygonale Zellen, ebenfalls zwischen 30 und 60 µm, mit einem vesikulären Zellkern dessen Durchmesser 7 bis 11 µm entspricht.

*Kleine Superfizialzellen* sind rund bis oval, 20 bis 30 µm groß und besitzen einen relativ großen vesikulären Zellkern.

*Parabasalzellen* beschreibt der Autor mit einer Größe von 15 bis 25 µm, einer runden bis ovalen Form und einem großen zentralen Zellkern mit einem Durchmesser von 9 bis 13 µm.

*Basalzellen* sind kleine langgezogene Zellen von 10 bis 20 µm Größe und sie besitzen einen zentral liegenden Zellkern.

Bei den *Metöstruszellen* handelt es sich um Parabasalzellen, die im Zytoplasma eingeschlossene Leukozyten aufweisen. Sie kommen nicht nur in der Metöstrus-Phase vor, sondern sind auch bei einer Vaginitis vertreten.

Die *Schaumzellen* erhalten ihren Namen durch die in ihrem Zytoplasma eingeschlossenen Vakuolen, die ihnen ein aufgeschäumtes Aussehen verleihen.

### **2.2.2 Einsatz von Hormonmetaboliten aus dem Kot zur Detektierung der Zyklusphasen (Perioden)**

Zur quantitativen Bestimmung von Steroidhormonen für die endokrine Analytik werden körpereigene Substanzen wie Blut, Harn, Milch oder Kot verwendet (KARG, 1994).

BAMBERG (1987) optimierte das von MÖSTL und Mitarbeitern (1983) entwickelte Verfahren für die Extraktion natürlich vorkommender Östrogene aus dem Kot. Die Kotproben wurden entweder direkt aus dem Rektum oder frisch abgesetzt vom Boden entnommen. Eine Kühlung ist nach Angaben der Autoren nicht erforderlich, nach siebentägiger Lagerung bei Raumtemperatur konnte kein Abfall der Werte gemessen werden.

Bei dem beschriebenen Verfahren werden die Östrogene durch Zusatz von Kalilauge (1 Mol/l) in ihre wasserlöslichen Phenolat-Ionen überführt und die übrigen Lipide mit einem Gemisch aus Chloroform und n-Hexan (bildet die untere Phase im Röhrchen, da es ein höheres spezifisches Gewicht hat) entfernt. Durch Verdünnen eines aliquoten Anteils der alkalischen Phase mit Puffer (pH 7) werden die Östrogene wieder in ihre ursprüngliche Form zurückverwandelt, so stehen sie für die quantitative Analyse mittels Immunoassay zur Verfügung. In den achtziger Jahren hat sich als Analysetechnik der Enzymimmunttest (Enzyme-immunoassay, EIA) zum Routineverfahren für die Hormonanalyse etabliert.

Ein Verfahren für die kompliziertere Extraktion von Gestagenen aus dem Kot wurde 1988 von SCHWARZENBERGER und Mitarbeitern ermittelt. Es beruht auf einer Verteilung der Steroide zwischen einer Methanol- und einer Petroletherphase.

Die Anwendung dieses Verfahren für die Zyklusdiagnostik spielt bei den meisten domestizierten Tierarten eine untergeordnete Rolle. Bei den Tieren,



die saisonal polyöstrisch sind (Schaf, bedingt Ziege, Pferd), kann durch diese Methode die saisonale Zyklizität ermittelt werden.

Große Bedeutung hat die Ermittlung der Hormonmetaboliten aus dem Kot zur Bestimmung von Zyklus und Trächtigkeit jedoch bei Zootieren, denn es ist eine nichtinvasive Möglichkeit, an Untersuchungsmaterial zu gelangen.

So konnte die Bestimmung von  $20\alpha$ -Hydroxy-Gestagen im Kot zur Zyklusdiagnostik unter anderem bei Equiden (Przewalski-Pferde, Zebras) und Nashörnern herangezogen werden (GÖLTENBOTH und FRANKE, 1990).

#### **2.2.2.1 Spezielle Zyklusdiagnostik beim Großen Ameisenbären mittels Hormonbestimmung aus dem Kot**

Mittels Steroidhormon-Bestimmung aus Urinproben von Großen Ameisenbären können keine Rückschlüsse auf den Zyklus gezogen werden, wie von SCHRATTER (2001) veröffentlicht wurde.

Auch HATT (1998) konnte im Verlauf von 100 Tagen durch Hormonuntersuchungen im Urin keinen Zyklus feststellen. Ein Zusammenhang zwischen den Deckdaten und dem Hormonspiegel bestand nicht.

Dagegen wurde 1998 der Ovarialzyklus bei drei Ameisenbärinnen mittels Hormonbestimmung aus dem Kot ermittelt (PATZL et al., 1998). Für die Untersuchung standen insgesamt fünf Tiere zur Verfügung, drei aus dem Zoo Dortmund und zwei aus dem Zoo München. Dabei bestimmten sie aus zweimal wöchentlich gesammelten Kotproben mittels EIA (Enzyme-immunoassay) den Gehalt an immunreaktiven Progestagenen und Östrogenen.

Die durchschnittliche Länge der ermittelten Zyklen liegt bei  $51,4 \pm 5,6$  Tagen (in einem Bereich von 44 bis 63 Tagen). Aus den gemessenen Werten geht hervor, dass die Follikelphase ein bis zwei Wochen andauert, gefolgt von einer Corpus-luteum-Phase, die zwei bis drei Wochen dauert. Die daran anschließende Diöstrus/Anöstrus-Phase hat ebenfalls eine Länge von zwei bis drei Wochen.

Nur die drei Ameisenbären des Dortmunder Zoos zeigten bei der beschriebenen Untersuchung eine regelmäßige Zyklusaktivität. Bei den Tieren aus dem Zoo München konnte kein regelmäßiger Zyklus ermittelt werden. Es finden sich zwar deutliche Östrogen- und Progestagen-Konzentrationen bei den Tieren, diese sind jedoch eher zufällig.

Bei der Ermittlung der Zykluslänge wird das Intervall zwischen zwei Östrogen-Peaks bestimmt. Der Östrogenbasalwert liegt bei  $6,1 \pm 0,5$  ng/g und steigt auf das Zehnfache an, bis zu seinem Peak von  $65,7 \pm 9,9$  ng/g (19,8 bis 99,6 ng/g), am Tag Null. Zwischen den einzelnen Individuen variiert die Konzentration des Östrogen-Peaks sehr deutlich. Bei einer Ameisenbärin zum Beispiel lag die Höchstkonzentration während der Follikelphase, in der auch eine Paarung stattfand, bei 19,8 ng/g Kot. Von allen untersuchten Tieren war dies der niedrigste Wert. Dagegen waren die Östrogen-Konzentrationen des Tieres während der zweiten und dritten Follikelphase post partum mit 99,6 ng/g und 96,6 ng/g die höchsten gemessenen Werte.

$16,9 \pm 3,7$  (10 bis 21) Tage nach dem Östrogen-Peak erfolgt der Progestagen-Peak. Im gleichen Maß, in der die Östrogen-Konzentration abfällt, steigt der Progestagenwert an. In den meisten Kotproben sind die Konzentrationen des 20 $\alpha$ -OH-P höher als die des 20-oxo-P.

Während der Lutealphase lag die durchschnittliche Höchstkonzentration des 20 $\alpha$ -OH-P bei  $244,6 \pm 46,7$  ng/g (96,3 bis 547,1 ng/g) und bei  $63,5 \pm 6,2$  ng/g während der Inter-Lutealphase. Die jeweiligen Werte für das 20-oxo-P lagen bei  $161,2 \pm 40,9$  ng/g (56,3 bis 420,5 ng/g) und  $35,8 \pm 3,8$  ng/g.

In dieser Messreihe lagen die gemessenen Höchstkonzentrationen von 20 $\alpha$ -Hydroxy-Progestagen zwischen 80 und 660 ng pro Gramm Kot und die der Östrogene zwischen 20 und 100 ng/g.

## 2.3 Graviditätsdiagnostik beim Großen Ameisenbär

### 2.3.1 Klinische Graviditätsdiagnostik

#### 2.3.1.1 Bauchumfang

Beim Großen Ameisenbär ist die einfachste, jedoch auch die unsicherste Methode des Trächtigkeitsnachweises, die Registrierung der Zunahme des Bauchumfanges. Gegen Ende der Trächtigkeit, die in der Regel 180 bis 190 Tage dauert, nimmt zirka einen Monat vor dem Partus der Bauchumfang der Großen Ameisenbärin mit dem Wachstum des Fetus deutlich zu (BARTMANN, *mündliche Mitteilung*; KORNILJEWA et al., 1975). Die Umfangszunahme während der Trächtigkeit ist individuell unterschiedlich stark ausgeprägt und Ameisenbären neigen in menschlicher Obhut zu Übergewichtigkeit (POGLAYEN-NEUWALL, 1990).

Um den Bauchumfang zu beurteilen, streicht der Untersucher mit beiden Händen von dorsal nach ventral an der seitlichen Bauchwand entlang und umfasst von der ventralen Seite das Abdomen. Ausgehend vom Sternum streicht er dann von kranial nach kaudal über den Bauch. Am Ende der Gravidität wölbt sich das Abdomen hinter dem Sternum deutlich hervor.

Im Dortmunder Zoo wurde die Zunahme des Bauchumfanges bis vor kurzer Zeit ausschließlich für die Graviditätsdiagnostik bei den Großen Ameisenbären eingesetzt und dient auch jetzt noch als ergänzendes Diagnostikum zur Sonographie (BARTMANN und OSMANN, *mündliche Mitteilung*). Im Zoo Zürich wird der Bauchumfang monatlich gemessen. Dabei wurden jedoch Bauchumfangsvermehrungen beim Weibchen auch bei Adipositas festgestellt (HATT, 1998).

Aber auch pathologische Ursachen wie zum Beispiel eine Peritonitis oder Tumoren können zu einer Zunahme des Bauchumfanges führen, so dass es zu falsch positiven Ergebnissen kommen kann.

Diese diagnostische Methode kann daher erst sehr spät im Trächtigkeitsverlauf erfolgen und ist zudem sehr unsicher. Dadurch kann es in

der Zucht dieser wertvollen und seltenen Tierart zu Zeitverzögerungen kommen, die nicht erwünscht sind.

Zusätzlich zur Zunahme des Bauchumfangs kann drei bis vier Wochen vor der Geburt bei der Ameisenbärin die Schwellung der brustständigen Milchdrüsen und die Verlängerung der Zitzen beobachtet werden (POGLAYEN-NEUWALL, 1990). Etwa zur selben Zeit tritt ein milchähnliches Sekret aus den Zitzen hervor.

### **2.3.1.2 Sonographie**

Die Sonographie ist eine nichtinvasive Untersuchungsmethode, die sofort verfügbare, bildliche Informationen liefert.

Vollständige Wachstumskurven von der Konzeption bis zur Geburt wie sie beim Pferd, Rind, Schaf, Ziege, Hund, Katze und Schwein vorliegen, sind bei Zoo- und Wildtieren noch nicht erarbeitet, da die Sonographie auf dem Gebiet der Zoo- und Wildtiermedizin bisher nur sehr begrenzt und nicht routinemäßig eingesetzt wird (GÖRITZ und HILDEBRAND, 1996).

Die in den Zoos gehaltenen Tiere stehen nur in geringer Individuenzahl für die Untersuchung zur Verfügung und besitzen meist einen hohen materiellen und ideellen Wert. Dadurch ist der Zugriff auf Zoo- und Wildtiere stark eingeschränkt. Somit liegt nur wenig anwendungsbereites Wissen über die morphologischen Besonderheiten vor, und der Fundus sonoanatomischer Referenzdaten ist unzureichend. Die meisten Zootiere müssen für die Untersuchung medikamentös immobilisiert werden, was sich einerseits limitierend auf die Wiederholbarkeit der sonographischen Untersuchungen auswirkt, andererseits jedoch ist diese Untersuchungsmethode gerade bei wertvollen Tieren angebracht.

Einige Tierarten tolerieren jedoch die Untersuchung auch ohne Zwangsmaßnahmen. Große Ameisenbären lassen sogar einen gewissen Trainingseffekt erkennen und können für diese Untersuchungsmethode konditioniert werden (OSMANN und SCHAUERTE, 2001). Mittels transabdominaler Sonographie konnten vorgenannte Autoren Graviditäten ab der 13. Graviditätswoche verifizieren.

Die transrektale Sonographie ist der transkutanen bei der Trächtigkeitsdiagnostik überlegen, jedoch ist die Auswahl der Schallköpfe bei handelsüblichen transportablen Geräten für exotische Tierarten nicht ausreichend (GÖRITZ und HILDEBRAND, 1996).

Mittels transkutaner oder transrektaler sonographischer Untersuchungen kann bei Säugetieren eine Graviditätsdiagnostik erfolgen, wenn der Embryo respektive Fetus oder trächtigkeitsassoziierte Veränderungen am Uterus oder am Ovar nachweisbar sind. Dazu werden die Größe, das Lumen und der Inhalt des Uterus beurteilt. Plazenta und Nabelschnur können ebenso beurteilt werden.

Über den Fetus erhält man mittels Ultraschall wertvolle Informationen hinsichtlich seiner Vitalität (Herzschlag, Fetalbewegungen), seines Wachstums, seines Alters und der Anzahl der Fruchtanlagen. Im Zoo Dortmund wurden bei einem graviden Tier mit anhaltender Blutung vier Wochen ante partum die Vitalität des Fetus sowie Lage und Anheftung der Plazenta engmaschig sonographisch kontrolliert; auf diese Weise konnte der optimale Zeitpunkt für eine Sectio caesarea bestimmt werden (OSMANN 2000). Darüber hinaus sind fetale Missbildungen diagnostizierbar (GÖRITZ und HILDEBRAND, 1996).

### **2.3.2 Graviditätsdiagnostik mittels Bestimmung von Hormonmetaboliten aus dem Kot bei verschiedenen Zootier-Spezies**

Die Wiener Arbeitsgruppe BAMBERG und MÖSTL entwickelten in den achtziger Jahren ein Verfahren zur Steroidanalytik im Kot bei Zooequiden. Sowohl für die Graviditätsfeststellung als auch zur Zyklusdiagnostik konnte die Methode erfolgreich erprobt werden (KARG, 1994). Für andere Zootiere ist aber aufgrund sehr unterschiedlicher Metabolisierungsmechanismen der Nachweis von trächtigkeitsassoziierten Hormonen ausgesprochen artspezifisch und daher nur für eine begrenzte Anzahl exotischer Tierarten etabliert (GÖRITZ und HILDEBRAND, 1996).

MÖSTL und Mitarbeiter (1987) führten die Graviditätsdiagnostik bei *Flusspferden*, *Mhorrgazellen*, *Nubischen Steinböcken*, *Rotbüffeln* und *Yaks* durch.

Die Aufbewahrung der vom Boden gesammelten Kotproben bis zur Analyse fand bei  $-20^{\circ}\text{C}$  statt. Die Analyse erfolgte bei allen Tierarten nach der gleichen Methode:

Dazu wurden 0,5 Gramm Kot mit 1,5 ml Kalilauge (ein Mol) und 0,5 ml eines Gemisches aus Chloroform und n-Hexan (60 + 40) versetzt und 30 Minuten geschüttelt. Die Ansäuerung von 0,5 ml der Kalilauge-Phase erfolgte mit 0,05 Milliliter 90%iger Essigsäure (pH 4-5). Die Extraktion wurde mit fünf Milliliter eines Gemisches aus Petrolether und Diethylether (9 + 1) durchgeführt. Nach dem Eindampfen der organischen Phase konnte der Extrakt in Puffer gelöst und der Östrogengehalt mittels Radio-Immunoassay (RIA) beziehungsweise Enzym-Immunoassay (EIA) untersucht werden.

Nur bei einem trächtigen *Flusspferd* war die Östrogenkonzentration während der Trächtigkeit gleich niedrig wie nach der Geburt. Bei allen anderen untersuchten Tieren wurde ab dem Beginn des zweiten Trächtigkeitsdrittels eine bis zu zehnfach höhere Östrogenkonzentration im Kot gemessen als bei ingraviden Tieren. Bis zum Geburtszeitpunkt sanken die Werte dramatisch ab. Das Ergebnis galt für folgende Tierarten: *Equiden* (*Przewalski-Pferden*, *Zebras*), *Rotbüffel*, *Yaks*, *Mhorrgazellen*, *Nubische Steinböcke* und auch für einige *Primaten*.

Bei *Orang Utans* traten jedoch erhebliche Variabilitäten zwischen den Proben auf, so dass einige speziesspezifische Besonderheiten noch ausgearbeitet und definiert werden müssen.

GÖRITZ und Mitarbeiter untersuchten 1997 die Hormonmetaboliten im Kot von *Braunbären*. Dazu erfolgte die Kotprobenahme von zwei trächtigen und zwei nicht trächtigen *Braunbären* in einem Zeitraum von September bis November in wöchentlichem Abstand. Bei zehn weiteren Braunbären erfolgte die Sammlung der Kotproben außerhalb der Zuchtsaison. Mittels Enzym-Immunoassay (EIA) konnten die Progesteronmetaboliten mengenmäßig bestimmt werden.

Von drei zuchtfähigen *Nashornkühen* im Zoo Berlin wurden 1989 wöchentlich Kotproben gesammelt und zur Analyse nach Wien gesandt. Dort erfolgte die Bestimmung der Hormonmetaboliten mittels Enzym-Immunoassay durch BAMBERG und SCHWARZENBERGER (1990). Bei *Elefanten* war es bisher nicht möglich, den Zyklusverlauf mittels der Kotanalyse zu identifizieren (GÖLTENBOTH und FRANKE, 1990).

Bei einem *Okapi* im Berliner Zoo ergaben Beobachtungen, dass in zwei- bis dreiwöchigem Abstand Schleimspuren an der Vulva auftraten, die mit dem Schwanz auf beide Hinterschenkel verteilt wurden. Um diese Schleimabsonderung in den Zyklus einzuordnen (Ende der Follikelphase oder Ende der Lutealphase), wurden ebenfalls Kotproben analysiert. Durch die Gestagenbestimmung konnte ermittelt werden, dass die Schleimspuren direkt mit dem Ende der Lutealphase in Zusammenhang standen, und es ergab sich eine Zykluslänge von 15 bis 17 Tagen.

### **2.3.3 Graviditätsdiagnostik beim Großen Ameisenbär mittels Hormonbestimmung aus dem Kot**

In der bereits beschriebenen Untersuchung von PATZL und Mitarbeiter (1998) wurden neben der Ermittlung des Ovarialzyklus von Großen Ameisenbären auch die Hormonmetaboliten in der Gravidität bestimmt. Dabei untersuchten vorgenannte Autoren aus zweimal wöchentlich gesammelten Kotproben mittels EIA (Enzym-Immunoassay) den Gehalt an immunreaktiven Progestagenen und Östrogenen.

Während der frühen Gravidität waren die Östrogen- und Progestagen-Werte ähnlich denen in der Follikel-Phase, eingeschlossen der Konzentrationsabfall fünf Wochen nach dem Östrogen-Peak. Im letzten Trächtigkeitsdrittel stiegen die Östrogenwerte auf 200 ng/g und überschritten eine Woche vor der Geburt die Konzentration in der Follikelphase um das Zweieinhalbfache.

Die Progestagenwerte stiegen erwartungsgemäß in der zweiten Hälfte der Trächtigkeit an und erreichten Werte von mehr als 6000 ng/g in der Woche vor der Geburt. Die Werte lagen weit über den gemessenen Konzentrationen

während der zyklischen Lutealphase, eine Woche vor der Geburt war der Wert sogar 20 mal höher als während der Lutealphase.

Die Länge der Gravidität wurde mit 184 Tagen angegeben und war vergleichbar mit den Angaben von BARTMANN (1983), MOELLER (1988) und POGLAYEN-NEUWALL (1990).

Nach der Geburt sank die Konzentration der Östrogene und des  $20\alpha$ -OH-P und erreichte innerhalb einer Woche post partum wieder den Basalwert.

Die normale Zyklusaktivität pendelte sich bei den untersuchten Tieren zu individuell unterschiedlichen Zeitpunkten (nach vier, sechs und zehn Wochen) wieder ein. In einem Fall konnte der Östrogen-Peak erst 15 Wochen nach der Geburt ermittelt werden. Die Progestagen- und Östrogenwerte waren in dieser Zeit niedriger als die Werte in den anderen drei post partum-Perioden der anderen Weibchen.

Die Laktation hatte dabei keinen Einfluss auf die Ovaraktivität nach der Geburt.



### **3.0 Material und Methoden**

#### **3.1. Haltungsmanagement**

Im Zoo Dortmund waren die Ameisenbären in einem Warmhaus untergebracht, das eine Umgebungstemperatur von 20 bis 24 °Celsius und eine Luftfeuchtigkeit von mindestens 40% aufwies. Die Boxen waren zugfrei, trocken und besaßen eine Sichtfläche aus Glas. Auf eine generelle Einstreu wurde verzichtet, jedoch stand den Großen Ameisenbären ein Strohlager als Schlafplatz zur Verfügung. Zur Beschäftigung erhielten die Tiere morsche Äste und Baumstämme, die von ihnen mit ihren Krallen bearbeitet und zerkleinert werden konnten. Futterschalen und Wassernäpfe waren weitgehend kippsicher verankert, um ein Umstoßen bzw. Umwerfen zu verhindern.

Zudem stand ein weitläufiges Außengehege zur Verfügung. Auch bei kalter Witterung konnte so den Großen Ameisenbären Auslauf gewährt werden. Unter der Umfriedung der Außengehege war ein mindestens 60 Zentimeter tiefes Fundament angelegt, um Ausbrüchen vorzubeugen. Es musste zudem sichergestellt sein, dass die Tiere sich nicht ablegten und Kälte sowie Regen ausgesetzt waren. Große Ameisenbären baden gerne und sind auch gute Schwimmer, daher war ihnen die Möglichkeit zum Baden in einem Teich auf dem Außengelände geboten.

Weibliche Ameisenbären lassen sich im Kollektiv halten. Nur bei bestehender Gravidität oder Mitführen eines Jungtieres ist eine Trennung angezeigt. Alle Altersgruppen und Geschlechter sollten jedoch visuellen oder olfaktorischen Kontakt zueinander haben.

Der Umgang mit den Großen Ameisenbären muss mit Vorsicht erfolgen und ruhiges Arbeiten ist wichtig. Hastige Bewegungen und laute, fremde Geräusche beunruhigen die Tiere und machen sie nervös. Große Ameisenbären dürfen – vor allem in Innenräumen - nicht bedrängt bzw. eingeeengt werden. Wenn sie sich bedroht fühlen, können sie mit ihren Vordergliedmaßen heftig zuschlagen. Gefährliche Verletzungen sind die Folge. Bei intensiver Beschäftigung werden sie sehr zahm und erkennen ihre Bezugspersonen.

In Menschenobhut wird den Ameisenbären ein Ersatzfutter angeboten. Der Futterbrei „nach Dortmunder Standard“ besteht aus folgenden Zutaten:

- Hackfleisch aus Rinderherz
- Gemahlene Hundefutter-Pellets
- Gemahlene Haferflocken
- Püriertes Obst/Gemüse (Äpfel, Birnen, Bananen, Tomaten)
- Gemahlener Garnelenschrot
- Gekochte Eier
- Quark
- Honig

Alle Zutaten werden mit warmen Wasser zu einem Brei vermengt. Kurz vor der Fütterung wird noch eine Handvoll gesiebten Torfes als Ballaststoff hinzu gegeben. Ein Großer Ameisenbär benötigt etwa 1000-1500 Milliliter täglich. Dabei wird die Menge auf zwei Portionen pro Tag aufgeteilt.

### **3.2 Probandenkollektiv**

Sechs weibliche Große Ameisenbären standen für die Untersuchung zur Verfügung. Der Untersuchungszeitraum für die vorliegende Arbeit erstreckte sich von März 2000 bis August 2002. Bei der täglichen Kontrolle der Großen Ameisenbären ließen sich durch Adspektion, Palpation und Entnahme von Zellmaterial die Veränderungen im Zyklusverlauf registrieren. Im Verlauf der Beobachtungsspanne konnten so insgesamt 31 Östruszyklen und sechs vollständige Graviditätsperioden erfasst werden.

Im Überwachungszeitraum kam es zu sieben Geburten und der Eintritt des ersten Östrus post partum wurde unter differenten Konditionen registriert.

### **3.3 Anatomische Grundlagen**

Grundlegende anatomische Grundlagen waren durch die pathologisch-anatomischen Untersuchungen zu gewinnen. An zwei adulten weiblichen Ameisenbären, einem weiblichen Neonat und einem Organpräparat erfolgte die Vermessung und die anatomische Zuordnung der jeweiligen Organe bzw. Organabschnitte. Die daraus ermittelten Maße und die Besonderheiten im Aufbau des Reproduktionstraktes fanden ihren Niederschlag in der Entwicklung der speziesspezifischen Vaginalzytologie. Sie stellten somit eine wichtige Grundlage für die eigene Abstrichtechnik dar.

### **3.4 Klinische Beurteilung des äußeren weiblichen Genitale**

Bei der nahezu täglichen Untersuchung der Großen Ameisenbären ließen sich durch Adspektion und Palpation Veränderungen im Zyklusverlauf registrieren. Palpatorisch erfolgte vor der Einführung des Spreizspekulums eine subjektive Beurteilung des Schwellungsgrades (‚leicht‘, ‚mittel‘ oder ‚stark‘) der Vulva. Beim Spreizen der Labien wurde das Kolorit (‚blassrosa‘, ‚hellrosa‘, ‚rosarot‘, ‚gerötet‘ o. ä.), die Beschaffenheit (‚glatt‘ oder ‚mit Auflagerungen‘) und der Feuchtigkeitsgrad der sichtbaren Vestibulumschleimhaut begutachtet. Zugleich war es möglich, die Menge und die Beschaffenheit von Vaginalsekret zu erfassen.

### **3.5 Vestibulo-vaginale Zytologie**

Da es sich bei der Methode der exfoliativen Zytologie um ein gering invasives Verfahren zur Charakterisierung des Sexualzyklus handelt, duldeten die Ameisenbärinnen die Abstrichnahme nach einer kurzen Zeit der Konditionierung ohne Sedierung problemlos. Das Schema der Vaginalzytologie wurde in den Grundzügen vom Haushund und der Katze für den Großen Ameisenbären übernommen, aber für diese Tierart modifiziert.

Geräte:

Folgende Geräte standen für die vestibularzytologischen Untersuchungen zur Verfügung:

Ein Spreizspekulum nach Kilian, Probeträger (Wattetupfer), physiologische Kochsalzlösung, Objektträger, Fixier- oder Haarspray, Färbelösungen (Haema-Schnellfärbung®) und ein Lichtmikroskop der Firma LEITZ mit den Vergrößerungen 1:10, 1:40 und 1:100. Für die Beurteilung wurden die Abstriche in der Vergrößerung 1:10 betrachtet.

Konditionierung:

Für die Abstrichnahme wurden die Ameisenbären konditioniert, das heißt, ihnen wurde zur Ablenkung kurz vor Beginn der Untersuchung die Futtermischung gereicht. Dadurch gewöhnten sich die Tiere schnell an ihre Bezugspersonen und tolerierten während der Futteraufnahme jede Form der Untersuchung. Sie waren schnell an tägliches Handling und Manipulationen durch das Pflegepersonal zu gewöhnen, so dass die Eingriffe ohne Sedierung oder Vollnarkose möglich waren.

Probenahme:

Die Entnahme der Abstriche erfolgte täglich. Vor dem Eingriff wurden die Objektträger mit den Namen der Einzeltiere und dem Datum beschriftet und auf der sauberen Arbeitsfläche bereit gelegt. Mit physiologischer Kochsalzlösung angefeuchtete sterile Watteträger lagen ebenfalls bereit.

Nach Reinigung der Vulva von grobem Schmutz und Kotresten mit einem angefeuchtetem Zellstoff erfolgte die Erwärmung und Befeuchtung des ‚Spreizspekulum nach Kilian‘ mit warmen Wasser. Die Labien wurden mit den Fingern der rechten Hand gespreizt und der buschige Schwanz der Ameisenbären gleichzeitig mit dem Unterarm zur Seite gehalten. Mit der linken Hand konnte das Einführen und anschließende Spreizen des Spekulums durchgeführt werden.

In den vom Spekulum gebildeten Gang ließ sich der Tupfer, möglichst ohne die Schleimhaut zu berühren, einführen. Auf diese Weise konnte eine Kontamination des Tupfers mit Zellen aus den vorderen Abschnitten des

Vestibulums oder den harnableitenden Wegen vermieden werden, die sonst das Bild hätten verfälschen können.

Bei den Großen Ameisenbären war es jedoch aufgrund des ungewöhnlich langen Vestibulums ( es misst ca. elf Zentimeter) nicht anders möglich, als den Zellabstrich aus dem Übergangsbereich vom Vestibulum zur Vagina zu entnehmen.

Durch einmaliges rückwärtiges Abstreifen des Watteträgers am dorsalen Vestibulumdach von kranial nach kaudal erfolgte die Entnahme der Zellprobe. Möglichst ohne weiteren Schleimhautkontakt wurde der Tupfer anschließend wieder aus dem Vestibulum gezogen und ohne großen Druck auf dem bereitliegenden Objektträger abgerollt. Die angefertigten Präparate unterlagen im ersten Schritt einer Lufttrocknung und im zweiten Schritt einer Fixierung mit Fixier- oder Haarspray. Nach Abtrocknung des Fixiersprays geschah die Färbung.

Die zwischen den einzelnen Untersuchungen durchgeführte Schnelldesinfektion des Spreizspekulums umfasste zwei Schritte:

1. Reinigung mit medizinischer Seife
2. Desinfektion mit Alkohol (90%).

Nach einer Einwirkzeit des Desinfektionsmittels von einigen Minuten erfolgte unter fließendem warmen Wasser neben der Entfernung des Desinfektionsmittels auch die Erwärmung des Spekulum. Täglich nach den Untersuchungen wurde das Spekulum 90 Minuten bei 120° Celsius sterilisiert.

### Färbung:

#### Haema-Schnellfärbung (*Labor + Technik, Eberhard Lehmann*):

Folgende Lösungen fanden für die Färbung der Ausstriche Verwendung:

- Fixierlösung → bestehend aus Methanol (99,8%) und Methylenblau
- Färbelösung I → zusammengesetzt aus Phosphatpuffer pH 6,5, Eosin (1,25 g/l) und diversen Detergenzien sowie der
- Färbelösung II → die aus Phosphatpuffer pH 6,5, Azur, (1,5 g/l) und weiteren Detergenzien besteht.

Der Objektträger mit dem Ausstrichmaterial wurde je fünf Sekunden (5 mal je eine Sekunde) in die Fixierlösung, Färbelösung I und Färbelösung II getaucht und anschließend mit Aqua dest. abgespült.

Nach dem Trocknen an der Luft fand die Auswertung der Zellen im Lichtmikroskop statt. Das Haema-Schnellverfahren ergab vergleichbare Ergebnisse wie die Wright-Giemsa-Färbung. Der Vorteil der Anfärbetechnik bestand nach Angaben des Herstellers in einer wesentlich kürzeren Anfärbzeit.

#### Beurteilung der Ausstriche

Im elektronischen Lichtmikroskop erfolgte bei der Vergrößerung von 1:10 die Beurteilung der Ausstriche. Der Objektträger wurde meanderförmig durchgemustert und zur Auszählung gelangten zweihundert Zellen. Die dem Schema bei der Hündin angeglichenen Zellgruppen konnten zugeordnet und der prozentuale Anteil berechnet werden. Als Sonderbefunde erschienen Erythrozyten, Leukozyten sowie Spermatozyten im Probematerial. Ausstrich-Hintergrund und Sonderformen von Zelltypen sowie Zelltrümmer ließen sich darstellen. Die Eintragung der Ergebnisse geschah für jedes Tier einzeln in einer täglichen Übersicht.

#### Fotos:

Die für diese Arbeit verwendeten vaginalzytologischen Bilder wurden an einem Ergolux AMC Mikroskop der Firma Leitz durchgemustert und mit einer digitalen Kamera Typ Olympus DP 12 angefertigt.

Nachfolgend sei das Untersuchungsprotokoll für die gynäkologische Befunderhebung beim Großen Ameisenbären dargestellt:

**Untersuchungsprotokoll:****Name:****Datum:**

Vulva:

Schleimhaut:

Tupfer:

Ausfluss:

Besonderheiten:

**Abstrich:**

Hintergrund:

**Zellen:****%**

Schollen:

Superfizialzellen

→

obere:

→

untere:

Intermediärzellen

→

hohe:

→

tiefe:

Parabasalzellen:

Davon:

Schaumzellen:

Modifizierte Zellen:

Basalzellen:

Leukozyten:

Erythrozyten:

Spermien:

**Ergebnis:**

### 3.6 Methode der Extraktion von Hormonmetaboliten aus dem Kot

#### Probenahme:

Bei drei Großen Ameisenbären fand die Entnahme der Kotproben im Zeitraum von März bis Oktober 2001 statt. Der Untersuchungszeitraum wurde bei drei weiteren Tieren bis März 2002 verlängert, da diese Weibchen zum genannten Zeitpunkt gravid waren. Die Befüllung der Sammelgefäße mit einer kleinen Menge Kot und deren anschließende Beschriftung mit dem Namen der Tiere und dem Datum geschah zweimal wöchentlich. Da die Ameisenbären zeitweise in Gemeinschaft gehalten wurden, musste besondere Sorgfalt bei der Zuordnung der Proben gewahrt werden. Die Röhrchen wurden gesammelt, sortiert und bei minus 18°C eingefroren. Nach einem Entnahmezeitraum von zehn Monaten wurden die Proben zur Analyse nach Wien in die Veterinärmedizinische Universität gebracht. Während des Transportes schützte Trockeneis die Kotproben vor dem Antauen. Der Versand der restlichen Proben erfolgte nach Beendigung der Sammelperiode.

#### Extraktionsmethode nach SCHWARZENBERGER et al. (1991):

Die nachfolgend beschriebene Extraktionsmethode wurde von der Arbeitsgruppe um Schwarzenberger im Institut für Biochemie an der Veterinärmedizinischen Universität Wien entwickelt.

Vor der Analyse mittels EIA müssen im ersten Schritt die Hormonmetaboliten aus dem Kot extrahiert werden.

Für die Extraktion der Östrogene und des Progestagens werden 0,5 Gramm Kot 30 Minuten in 0,5 ml destilliertem Wasser und 4 ml Methanol gerührt. Dann fügt man 3 ml Petroleum-Äther hinzu und schüttelt das Reagenzglas 15 Sekunden, um unpolarisierte Lipide zu entfernen. Nach dem Zentrifugieren wird die Methanol-Fraktion mit Puffer (20 mmol Trishydroxyaminomethan, 0,3 mol NaCl, 0,1% Rinder-Serumalbumin und 0,1% Tween 80, pH7, mit 1 mol HCl) verdünnt und ist bereit für die EIA-Analyse.

Die EIA für die unkonjugierten Gesamtöstrogene wird mit Antikörpern gegen 17 $\beta$ -Östradiol-17-HS:BSA und Östron durchgeführt. Mit Östriol (129%),



Östron (100%), Östradiol-17 $\beta$  (70%) und Östradiol-17 $\alpha$  (19%) kommt es dabei zu Kreuzreaktionen.

Die Antikörper für die Progestagenanalyse sind gegen 4-Pregnan-6 $\alpha$ -ol-3,20-dione-6-HS:BSA gerichtet und reagieren hauptsächlich mit 20-oxo-Progesteron (20-oxo-P) kreuz. Weitere Antikörper richten sich gegen 5 $\beta$ -Pregnan-3 $\alpha$ , 20 $\alpha$ -diol-3-Glucuronid:Ovalbumin. Es kommt zu Kreuzreaktionen mit den verschiedenen Progestagen-Metaboliten.

Die Extrakte aus dem Kot werden für die Progestagenbestimmung auf dem Lichrosorb Si 60 chromatographiert, wobei eine Mischung von Chloroform und *n*-Hexan im Verhältnis 7:3 benutzt wird. Der lineare Gradient ist Methanol (0-6%). Das Mischungsverhältnis für die Bestimmung der Östrogene beträgt dabei 1:1 (Chloroform zu *n*-Hexan) und der lineare Methanol-Gradient reicht von 0 bis 10 %.

#### Analytik:

Für jeden einzelnen Zyklus wird der Tag, an dem die höchste Östrogenkonzentration gemessen wird, als Tag 0 bezeichnet. Der Mittelwert errechnet sich durch die mittlere Östrogen-Konzentration in den Kotproben, die zwischen den Tagen 10 und 35 und den Tagen -14 und -10 des Ovar-Zyklus gesammelt wurden. Bei diesem Zeitraum handelt es sich um den Diöstrus beziehungsweise Anöstrus.

Der Progestagen-Mittelwert der immunreaktiven Progestagene (20 $\alpha$ -OH-P und 20-oxo-P) wird aus den Kotproben errechnet, die zwischen Tag 28 und 35 sowie zwischen Tag -14 und 0 des Ovar-Zyklus gesammelt wurden. Diese Phasen werden Anöstrus beziehungsweise Proöstrus genannt.

Die durchschnittlichen Werte der Östrogen-Höchstkonzentration werden aus den Konzentrationen am Tag 0, die durchschnittlichen Werte der Progestagen-Höchstkonzentration aus dem höchsten gemessenen Wert zwischen dem 10. und 21. Tag des Ovar-Zyklus berechnet.

### High-Performance-Liquid-Chromatographie

Der proportionale Anteil der herausgelösten Progesteron-Metaboliten variiert in Abhängigkeit vom Reproduktionsstatus der Tiere. In der *Lutealphase* findet man verschiedene polare Metaboliten, in der *späten Gestation* ist der proportionale Anteil und die Anzahl der Metaboliten im Vergleich zur *frühen Gestation* erhöht. Einige spezifische Metaboliten können jedoch nicht identifiziert werden, da ihre Immunreaktivität offenbar weder mit dem nativen Progesteron noch mit 20 $\alpha$ -Hydroxyprogesteron in Zusammenhang steht. Während der *Follikelphase* werden zunächst vier apolare Peaks aus dem Kot-Extrakt herausgelöst, bevor  $^3\text{H}$ -20 $\alpha$ -Hydroxyprogesteron herausgelöst wird. Zwei immunreaktive Östrogen-Peaks werden in dieser Phase deutlich, einer wird zusammen mit  $^3\text{H}$ -Östron herausgelöst und ein zweiter zusammen mit  $^3\text{H}$ -Östradiol-17 $\beta$ .

## **3.7 Sonographie**

Für die Durchführung der transabdominalen Sonographie stand ein tragbares Ultraschallgerät der Firma KRETZ Technik (SONO ACE 600®) mit einer 3,5 MHz und einer 6,5 MHz Mikrokonvexsonde zur Verfügung.

Für die einmalige transrektale Ultraschallapplikation eines graviden Tieres fand ebenfalls ein portables Gerät, CS 9100 HITACHI (Neu-Isenburg) sowie ein intraoperativer 7,5 MHz Konvex-Schallkopf (EUP-F334, 4 0 R Fingertip) mit einem speziell hierfür entwickelten Schallkopfadapter (Patent: IZW Berlin) Verwendung.

### Transabdominale Sonographie

Für regelmäßige Kontrolluntersuchungen standen vier weibliche Ameisenbären zur Verfügung, die - analog zum Vorgehen bei der Abstrichnahme – einem Konditionierungsvorgang unterlagen. Die Tiere nahmen während des gesamten Zeitraums ihre Futterportion ein. Dadurch musste sich die Untersuchungszeit auf fünf bis zehn Minuten beschränken. Eine Anpassung an die Revierabläufe, die räumlichen Gegebenheiten und eine besonnene Vorgehensweise waren Grundvoraussetzungen für den

reibungslosen Untersuchungsablauf. Die sonographische Kontrolle von insgesamt sechs Graviditäten ermöglichte die Gewinnung wichtiger Erkenntnisse über den Graviditätsverlauf beim Großen Ameisenbären.

Um eine gute Ankopplung zu erreichen, erfuhren die Ameisenbären eine gründliche Rasur einer Flanke zwischen letzter Rippe und Hüfthöcker sowie des ventralen Abdomens. Obligat war das Auftragen von Kontaktgel auf die Haut vor jeder Untersuchung.

Dann wurde für die transkutane Graviditätsfrühdiagnostik (ab der 13. Woche) der Schallkopf am stehenden Tier zwischen Oberschenkel und der Bauchwand der rechten oder linken Körperseite mit leichtem Druck eingeschoben. Die Schallrichtung lag dabei leicht nach kaudodorsal. Diese Region wurde gleichmäßig mit dem Schallkopf abgefahren. Da im angegebenen Bereich nur zirka sechs Zentimeter Abstand zwischen der letzten Rippe und dem Hüfthöcker bestehen, ist der Raum für den Schallkopf sehr begrenzt. Weitere einschränkende Faktoren der transkutanen Sonographie waren die extrem dicke Bauchwand der Großen Ameisenbären, die 1,6 bis 2,0 Zentimeter beträgt, die Atmung und spontane Bewegungen der Tiere während der Manipulation. Orientierungshilfen für die Diagnose waren der kranial der Harnblase liegende flüssigkeitsgefüllte Uterus, die Plazenta sowie die darin eingebettete Frucht.

Im zweiten Graviditätsabschnitt und verstärkt im letzten Trimenon der Gravidität, erfolgte die Sonographie von ventral entlang der Medianebene, 5 bis 10 Zentimeter kaudal des Nabels, da der spätgravide Uterus von hier aus optimal erreichbar ist. In der ersten Hälfte der Gravidität wurde der 3,0 MHz-Schallkopf, später der 6,5 Mhz-Schallkopf verwendet.

Die Untersuchungen fanden in mindestens wöchentlichen, teilweise in zwei bis dreitägigem Abstand statt.

Zur Beurteilung kamen dabei *im ersten und mittleren Graviditätsdrittel* die Lage und Größe des Uterus sowie die Größe beziehungsweise Länge der Fruchtanlagen.

*Im letzten Trimenon der Gravidität* stand die Erfassung der Größe und Vitalität der Frucht (Fruchtbewegungen), inklusive Beurteilung der Herztätigkeit im Vordergrund der Untersuchung. Es erfolgte die Zuordnung und Messung von Fruchtteilen. Lage und Stellung der Frucht sowie Lage und Sitz der Plazenta wurden bestimmt.

Zunächst erfolgte das Einfrieren und Speichern der Aufnahmen auf dem Untersuchungsgerät. Anschließend mussten die sonographischen Bilder auf Diskette beziehungsweise den PC übertragen und dort bearbeitet werden.

#### Transrektale Sonographie

Die einmalige Untersuchung eines sechs Jahre alten, scheinbar sterilen Tieres (Vera, Zuchtbuchnummer 0388) erfolgte in Vollnarkose. Für die Narkose wurden dem Tier 2,0 ml Hellabrunner Mischung Ketamin/Xylazin (Konzentration: je 100 mg in 1,0 ml Lösung) intramuskulär verabreicht.

Die Spülung des Rektums mit angewärmten Leitungswasser war als Vorbereitung für die Einführung des Schallkopfes unabdingbar. Erst dann konnte der 7,5 MHz-Schallkopf mittels Spezialadapter eingeführt werden.

Vestibulum, Vagina und Uterus, sowie Urethra und Harnblase wurden dargestellt und morphologisch beurteilt.

## 4.0 Ergebnisse

### 4.1 Voruntersuchungen

#### 4.1.1 Anatomische Grundlagen

Die im Rahmen von Voruntersuchungen im Zoo Dortmund durchgeführten Sektionen weiblicher Großer Ameisenbären lieferten wichtige anatomische Erkenntnisse im Hinblick auf die vorliegende Studie. Insgesamt gelangten zwei ingravide adulte Tiere, die entnommenen Geschlechtsorgane eines intra partum verstorbenen Tieres und ein Neonat zur Beurteilung.

Die Untersuchung eines 30 Jahre alten weiblichen Tieres erbrachte folgende Befunde:

Das *Perineum* war sehr kurz, der Abstand der dorsalen Vulva-Kommissur zum Anus betrug nur einen Zentimeter. Die *Rima vulvae* hatte eine Länge von 3,5 cm und klaffte aufgrund einer altersbedingten Bindegewebsinduration leicht auseinander. Die *Labien* waren borstig behaart, schlaff und besaßen eine weiche Konsistenz. An zwei Stellen der rechten Labie befanden sich kleine warzenähnliche Gebilde.

Die Distanz von der Vulva bis zur Einmündung der Urethra („Osteum urethrae externum“), als Länge des Vestibulums festgelegt, betrug 11 cm. Die Schleimhaut erschien glatt und feuchtglänzend. Im kaudalen Bereich, auf dem Grund des Vestibulums, waren rechts und links der Medianen jeweils zwei punktförmige Öffnungen angelegt. Dabei handelt es sich um die Ausführungsgänge der Bartholini'schen Drüsen. Eine Schleimhautfalte trennte das Vestibulum von der Vagina. Mit einer Metallsonde erfolgte die Überprüfung der Durchgängigkeit dieser hymenähnlichen Anlage. Die zentral gelegene Öffnung hatte einen Durchmesser von zirka 1,5 cm.

Die *Vagina* besaß insgesamt eine Länge von 10,5 cm und einen Durchmesser von 1,0 cm in Höhe des Hymenalringes zur Vagina. Im mittleren Bereich zeigte sie einen Durchmesser von 3,5 cm und am Übergang zum uterusnahen Bereich lag dieser bei 2,0 cm. Diese ampullenförmige Erweiterung im Mittelteil konnte auf zwei Zubildungen zurückgeführt werden, die in das

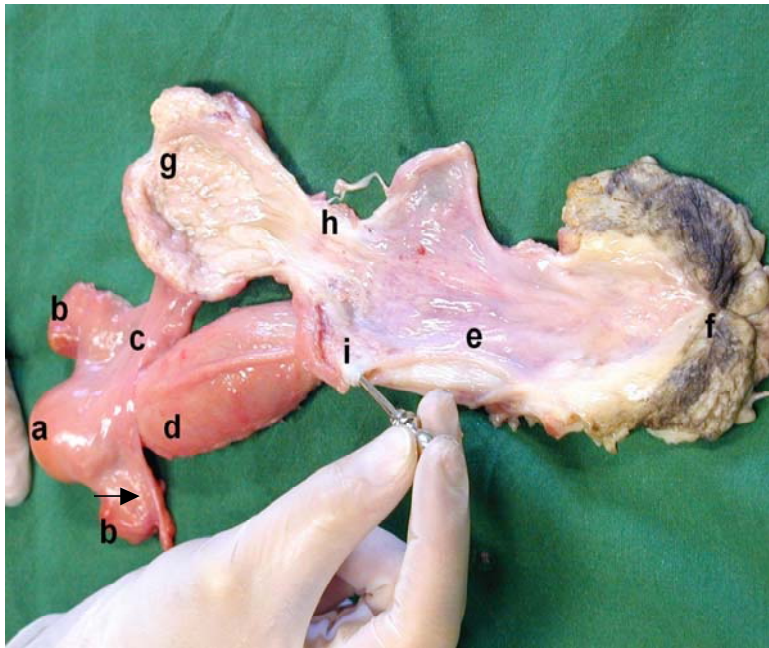
Lumen hineinragten. Eine zu einem späteren Zeitpunkt durchgeführte pathologische Untersuchung dieser Gebilde führte zu dem Ergebnis, dass es sich bei diesen Zubildungen um Leiomyome handelte.

Die Vaginalschleimhaut war hellrosa bis leicht gelblich, gefältelt und feuchtglänzend. Im Bereich der Zubildungen, die gestielt auf der Schleimhaut saßen, befand sich ein bräunliches, schmieriges Sekret.

Im Gegensatz zu anderen Haussäugetieren besteht beim Großen Ameisenbär die Zervix nicht aus Muskelfaserbündeln und aus derbem Bindegewebe, sondern ähnelt in ihrer Struktur dem Aufbau der Vagina. Sie setzt sich nicht gegen Uteruskörper und Vagina ab, die Übergänge sind kontinuierlich. Als einziges Merkmal für das Vorhandensein einer Zervix kann die allmähliche Verringerung der Vaginal-Fältelung gelten. Der zerviko-vaginale Übergang ist daher undeutlich markiert, so dass Vagina und Zervikalanteil sowie Zervix und Uterus fließend ineinander übergehen. Dieser Abschnitt war bei dem Sektionstier ca. 3,0 cm lang.

Der *Uterus simplex* besaß ein Ausmaß von 3 x 4 cm. Er war von fester Konsistenz. Im Anschnitt fiel eine leichte, altersbedingte Verkalkung der Muskulatur auf. Die Uteruswand, hauptsächlich gebildet vom Myometrium, war 2 cm dick. Das Endometrium erschien blass, leicht gefaltet und feuchtglänzend.

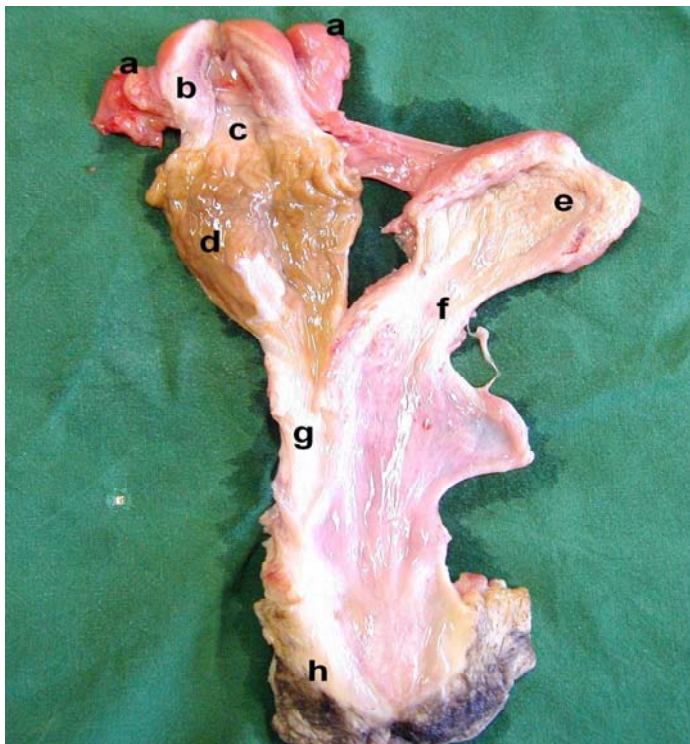
Die inaktiven *Ovarien* wiesen eine Größe von 1,5 x 1,0 x 1,0 cm auf. Sie lagen dem Uteruskörper dicht an, bedingt durch die kurze Mesosalpinx. Wie auch das Myometrium waren die Eileiterwände verkalkt, woraus ihre feste Konsistenz resultierte. Ihre Länge betrug ca. 3,5 cm. Sie verliefen in einer Serosafalte, der Mesosalpinx. Die Mesosalpinx bildete mit dem Mesovarium und dem Ovar gemeinsam die Bursa ovarica.



### Zeichenerklärung

- a-Uterus simplex
- b-Ovarien in Bursae ovaricae u. Verlauf der Salpinx (Pfeil)
- c-Ligamentum latum uteri
- d-Vagina
- e-Vestibulum vaginae
- f-Vulva
- g-Vesica urinaria
- h-Urethra
- i-Hymenalringfalte

**Abb. 1: Dorsale Ansicht des Urogenitaltraktes eines adulten weiblichen Großen Ameisenbären. Vulva, Vestibulum, Urethra und Harnblase sind dorsal eröffnet. Vagina, Uterus und Ovarien befinden sich im Originalzustand.**



### Zeichenerklärung:

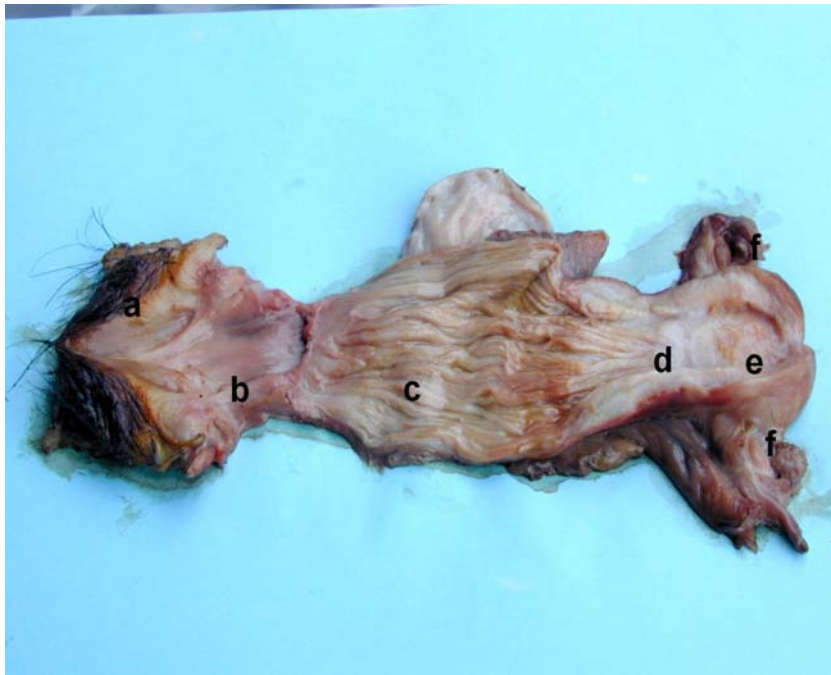
- a-Ovarien
- b-Uterus simplex
- c-“Zervixzone”
- d-Vagina
- e-Vesica urinaria
- f-Urethra
- g-Vestibulum vaginae
- h-Vulva

**Abb. 2: Dorsale Ansicht von Vulva, Vestibulum, Vagina, Uterus, Harnblase und Urethra eines adulten weiblichen Großen Ameisenbären. Die Organe sind dorsal eröffnet.**

Weiterhin stand ein exenteriertes Harn- und Geschlechtsorgan eines euthanasierten weiblichen Großen Ameisenbären für die Untersuchung zur Verfügung. Das Tier war ein Wildfang und zum Zeitpunkt des Todes 20 Jahre in Menschenobhut. Es hatte nie Jungtiere aufgezogen.

Die Ergebnisse der Längenmessung der Organe lauteten wie folgt:

Die *Vulva* dieses Tieres wies eine Länge von 4,5 cm auf. Das Vestibulum war, im Vergleich zu den anderen untersuchten Tieren, mit einer Länge von 7,5 cm relativ kurz. Die *Vagina* maß 9,0 cm und die Zervixzone war ca. 3,5 cm lang. Die Größe des *Uterus simplex* betrug 4,0 mal 4,0 cm. Im aufgeschnittenen Zustand besaß der Uterus einen Querschnitt von 4,0 x 5,0 cm und hatte eine Wanddicke von 1,5 cm.

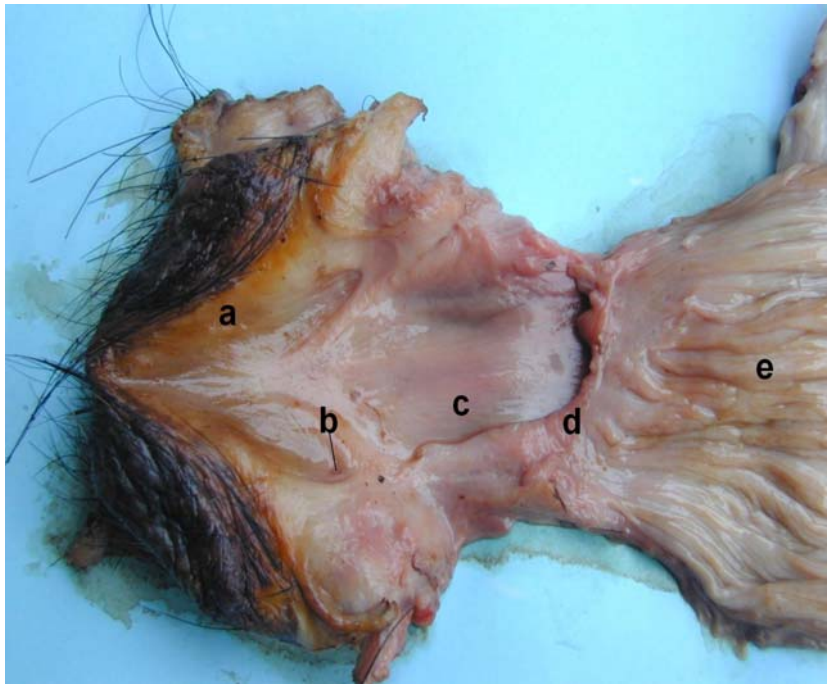


#### Zeichenerklärung

- a-Vulva
- b-Vestibulum
- c-Vagina
- d-Zervixzone
- e-Uterus
- f-Ovarien

**Abb. 4: Dorsale Ansicht des weiblichen Reproduktionstraktes eines Großen Ameisenbären [Alter des Tieres: über 20 Jahre].**

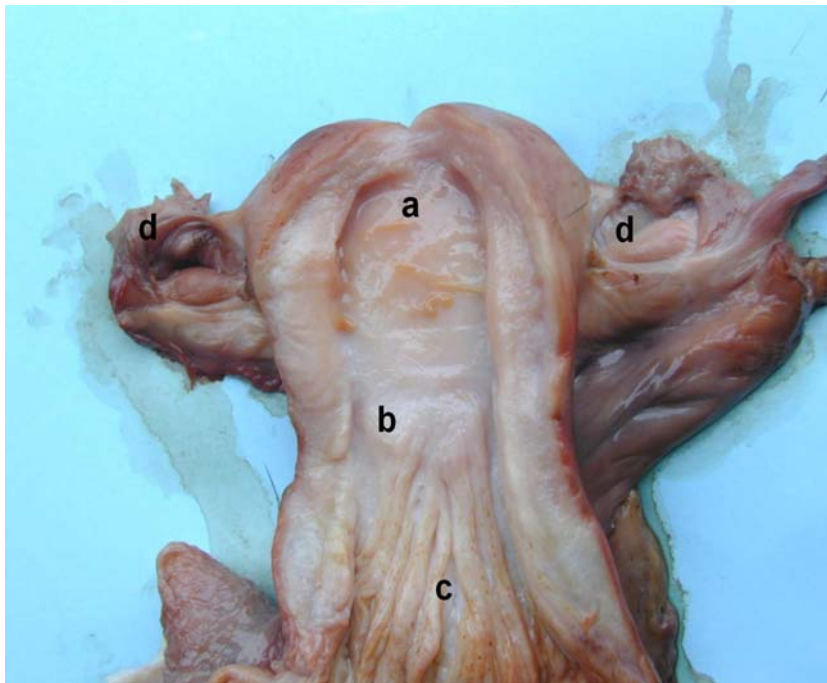




### Zeichenerklärung

- a-Vulva
- b-Ausführungsgänge  
der Bartholini'schen  
Drüsen
- c-Vestibulum
- d-Übergang  
Vestibulum-Vagina
- e-Vagina

**Abb. 5: Darstellung des Überganges von Vestibulum zur Vagina eines adulten weiblichen Großen Ameisenbären. Ansicht von dorsal.**



### Zeichenerklärung

- a-Uterus simplex
- b-Zervixzone (Länge  
ca. 3,5 cm)
- c-Vagina
- d-Ovarien

**Abb. 6: Dorsale Ansicht der Zervixzone, der Übergangsbereich von Vagina zum Uterus, eines adulten weiblichen Großen Ameisenbären.**

Dazu bestand die Gelegenheit, die Sektion eines intra partum verstorbenen Muttertieres vorzunehmen:

Das *Perineum* wies bei diesem Tier eine Länge von ca. 1,5 cm auf. Die *Vulva* war stark ödematisiert, als Folge der Geburtsvorbereitung. Die Größe der Labien betrug 6,0 x 5,0 cm.

Der *Vestibulumboden*, gemessen von der ventralen Vulvakommissur bis zum Ostium urethrae externum, hatte eine Länge von 15 cm. Das Dach des Vestibulums, es reichte von der dorsalen Kommissur bis zur Einmündung der Urethra, maß 11 cm. Die Schleimhaut hatte eine dunkelrote Farbe und zeigte einige blutige Läsionen, die sich durch den vorab durchgeführten manuellen geburtshilflichen Eingriff erklären ließen.

Eine Schleimhautfalte trennte das Vestibulum von der *Vagina*. Die Länge dieser Schleimhautfalte betrug im erschlafften Zustand 2,5 Zentimeter. Unter der Geburt war die Öffnung für eine Hand passierbar und sehr dehnbar. Gemessen von dieser Schleimhautfalte bis zur „Zervixzone“, hatte die Vagina ein Ausmaß von 11 Zentimetern. In dieser Region zeigte die leicht gequollene Schleimhaut eine dunkelrote Farbe und ebenfalls einige geburtsbedingte petechiale Blutungen.

Eine *Zervix* im eigentlichen Sinne war nicht deutlich markiert. Im Übergang von Vagina zum Uteruskörper konnte eine 3,0 cm breite Zone stärker gefalteter Schleimhaut als „Zervixbereich“ angesprochen werden.

Auf die Ausmessung des *Uterus simplex* wurde aufgrund der zuvor durchgeführten geburtshilflichen Manipulationen in diesem Fall verzichtet.

Die *Ovarien* hatten eine Größe von ca. 1,5 x 1,0 x 1,0 cm wobei sich am linken Ovar ein 0,3 x 0,3 cm großes Corpus luteum graviditatis befand.

Befunde von einem Neonaten:

Der weibliche Neonat war zum Zeitpunkt der Geburt voll ausgereift. Die Geburt erfolgte am 186. Tag der Trächtigkeit. Sein Gewicht betrug 1950 Gramm und seine Gesamtlänge 68 cm. Im Bereich von Brust und Bauch wies das Jungtier einen Umfang von 26 cm auf.

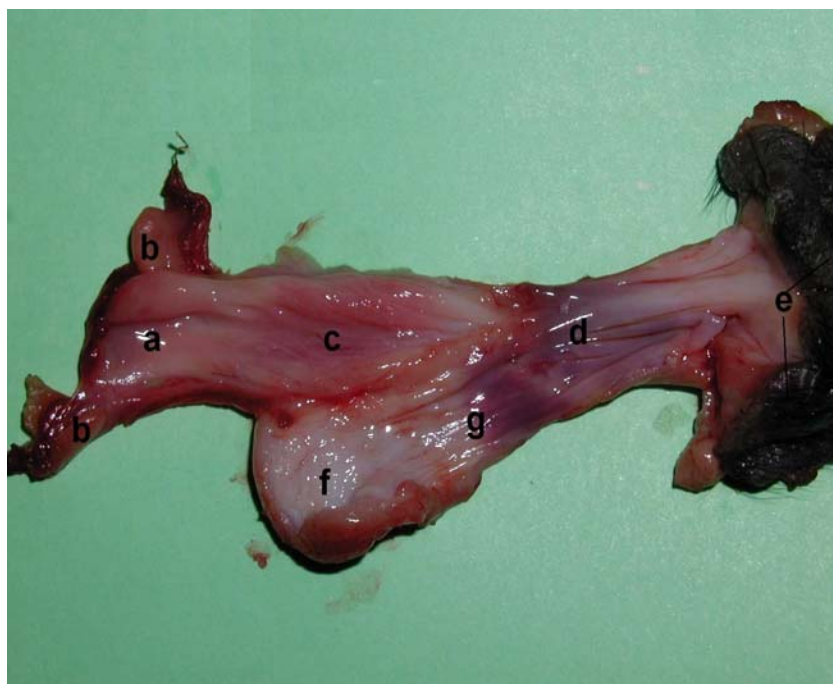
Die Länge des *Vestibulums* wurde von der Rima vulvae bis zum Ostium urethrae externum bestimmt und maß 3,0 cm. Die Entfernung vom Ostium urethrae externum bis zum Blasenscheitel wies eine Länge von 2,0 cm auf.

Als Abgrenzung von Vestibulum zur Vagina gilt als Kriterium die bereits beschriebene hymenähnliche Struktur, die mit einer Knopfkanüle gerade noch passierbar war.

Die Länge der *Vagina* stellte sich mit 2,0 cm sehr kurz dar und auch hier konnte keine deutlich abgrenzbare Zervix bestimmt werden.

Der *Uterus simplex* maß zusammen mit der „Zervixzone“ 1,5 cm.

Die Schleimhaut hatte in allen Bereichen des Urogenitaltraktes eine hellrosa Farbe und ein glattes, feuchtes Aussehen.



#### Zeichenerklärung

- a-Uterus simplex
- b-Ovarien
- c-Vagina
- d-Vestibulum
- e-Vulva
- f-Vesica urinaria
- g-Urethra

**Abb. 3: Harn- und Geschlechtsorgane eines weiblichen Neonaten (Totgeburt), von dorsal in der Medianen eröffnet.**

**Tab. 3 : Zusammenfassung der anatomischen Untersuchungsbefunde von insgesamt vier weiblichen Großen Ameisenbären:**

<b>Funktionszustand der Organe</b>  <b>Ana- tomische Zuordnung u. Länge in cm</b>	<b>ingravid n=2</b>		<b>intra partum n=1</b>	<b>neonatal n=1</b>
	<b>1.</b>	<b>2.</b>		
<b>Rima vulvae</b>	3,5	4,5	6,0	1,5
<b>Perineum</b>	1,0	nicht vorhanden	1,5	ca. 0,5
<b>Vestibulum</b>	11,0	7,5	15,0 ventral 11,0 dorsal	3,0
<b>Vagina</b>	10,5	9,0	11,0	2,0
<b>Zervix bzw. "Zervixzone"</b>	undeutlich	3,5	undeutlich	0,4
<b>Uterus</b>	3,0 x 4,0	4,0 x 4,0	keine Messung	1,5
<b>Ovarien</b>	1,5 x 1,0	1,5 x 1,0	1,5 x 1,0	0,3 x 0,2

## 4.2 Klinische Beurteilung

### 4.2.1 Beurteilung des äußeren weiblichen Genitale

Bei der täglichen Untersuchung der Großen Ameisenbären (n=6) über einen Zeitraum von 29 Monaten (März 2000 bis August 2002) wurden durch Adspektion und Palpation Veränderungen des äußeren weibliche Genitale im Zyklusverlauf registriert. Die Beurteilung des Ausprägungsgrades der Ödematisierung geschah nach einer Einteilung in die Stufen: „leicht“, „mittel“, „stark“ und „prall“.

Folgende Veränderungen von Vulva und Vestibularschleimhaut ließen sich feststellen:

Die juvenile Vulva stellte sich klein und fest dar, mit einer Länge von ca. 2,5 (bis 3,0) x 1,5 (bis 2,0) cm. Die Vestibular-Schleimhaut erschien blassrosa, glatt und feucht. Im Zyklusverlauf adulter Großer Ameisenbären schwoll die Vulva während des Östruszeitraumes dagegen mittelgradig bis stark an, wobei die stärkste Ausprägung zu dem Zeitpunkt, an dem das vaginalzytologische Zellbild von Intermediär- auf Superfizialzellen umsprang, also in der Mitte der Östrusphase gegeben war. In dieser Zeit konnten auch die Östrogen-Peaks mittels der koprologischen Untersuchung ermittelt werden. Die Ödematisierung ging in den letzten Tagen des Östrus langsam zurück, um ihre ursprüngliche Fältelung wieder einzunehmen.

Im Einklang mit der zunehmenden Vulva-Schwellung im Östrus war eine deutliche Veränderung der sichtbaren Vestibular-Schleimhaut zu beobachten. Zu Beginn des Östrus zeigte sie eine hellrosa Färbung bis hin zu einer deutlichen Rötung während in der mittleren Östrusperiode. In dieser Zeit war der durch die Oestrogenisierung bedingte Fältelungsgrad der vestibulären Schleimhaut am stärksten ausgebildet und die Schleimhaut hochgradig aufgequollen. Gegen Ende des Östrus bildete sich die Fältelung langsam zurück und die Durchblutung der Schleimhaut nahm wieder ab. Im weiteren Zyklusverlauf nahm die Schleimhaut eine blassrosa Farbe an und war glatt und feucht.

Der Ausprägungsgrad der Vulva-Schwellung zeigte allerdings bei den einzelnen Tieren individuelle Unterschiede. Jüngere Ameisenbären, die

bislang eine geringere Geburtenzahl aufwiesen, besaßen eine kleinere Vulva (2,0 cm breit x 3,5 cm lang). Bei Tieren, die bereits mehrere Jungtiere geboren hatten, war die Vulva ausgedehnter (ca. 4,0 cm breit x 5,0 cm lang). Durchschnittlich lag die Breite der nicht geschwollenen Vulva bei 3,2 (2,0 bis 4,0) cm, die Länge bei 4,2 (3,5 bis 5,0) cm.

**Tab. 4: Veränderungen der Vestibularschleimhaut und Größenzunahme der Vulva weiblicher Großer Ameisenbären im Verlauf des Östrus**

Kriterium	Frühe Östrusperiode	Übergang frühe-mittlere Östrusperiode	Späte Östrusperiode
<b>Schwellungsgrad der Vulva:</b>	beginnende Schwellung +	starke Schwellung +++	deutliche Schwellung ++
<b>Kolorit der vestibulären Schleimhaut:</b>	blass- bis hellrosa	rosarot	gerötet
<b>Fältelungsgrad der vestibulären Schleimhaut:</b>	+	++	+

Beginnende Schwellung (+) Größenzunahme der Vulva ca. 0,5 cm

Deutliche Schwellung (++) Größenzunahme der Vulva ca. 1,0 bis 2,0 cm

Starke Schwellung (+++) Größenzunahme der Vulva über 2,0 cm

Die vier älteren der insgesamt sechs kontrollierten Ameisenbären zeigten diese Veränderungen im Verlauf des Östrus sehr deutlich. Bei einem juvenilen Weibchen waren die Veränderungen schwächer und weniger deutlich ausgeprägt. Das älteste Tier (über 14 Jahre) der Untersuchungsgruppe wies dagegen keinerlei Veränderungen von Schleimhaut oder Vulva im Verlauf des Zyklus auf. Dieses Weibchen war über den gesamten Kontrollzeitraum azyklisch.

#### 4.2.2 Sekretion aus der Rima vulvae

Sekret wurde beim Großen Ameisenbären nur während des Proöstrus und Östrus registriert. Außerhalb der Proöstrus- und Östrus-Periode trat kein Sekret aus der Rima vulvae.

Innerhalb der Proöstrus-Periode kam es physiologischerweise zum Abgang von blutigem Sekret. Dabei war zu erkennen, dass die auftretenden Blutungen mengenmäßig zwischen den einzelnen Individuen variierten, von kaum merklich bis zu deutlich ausgeprägt. Die Dauer des blutigen Vaginalausflusses variierte in gleichem Maße und schwankte zwischen 2 und 14 Tagen. Bei dieser, vor dem eigentlichen Östrus auftretenden Blutung, handelte es sich ähnlich wie bei dem Haushund um eine proöstrische Aufbaublutung. Allerdings konnten in 14 von 40 Zyklen (= 35%) Erythrozyten in geringer Anzahl bis in die Phase des Östrus hinein nachgewiesen werden (siehe Tabelle 7).

Am Übergang von Proöstrus zum Östrus kam es in der Regel zu einem Wechsel im Kolorit des Genitalsekrets. In der Phase des *Östruszeitraums* wurde bei den weiblichen Ameisenbären ein weißlichen bis gelbliches, zäh-schleimiges Sekret beobachtet. Beim Spreizen der Labien waren in dieser Zeit jedoch nur geringe Schleimspuren in dem den perivulvären Bereich umgebenden Fell erkennbar. An Spekulum und Tupfer befanden sich hingegen deutliche Mengen dieses gelblich-weißlichen Schleimes.

Zwei bis drei Tage vor Östrusbeginn setzte die Schleimsekretion ein und nahm gegen Ende des Östrus langsam ab, so dass durchschnittlich 4 Tage (3 bis 5 Tage) vor Ende des Östrus kein Schleim mehr nachweisbar war (siehe Tabelle 7).

### 4.3 Befundung der vestibulo-vaginalen zytologischen Präparate

#### 4.3.1 Kriterien für die Unterscheidung der Epithelzellarten im vestibulo-vaginalen Abstrichmaterial

##### Modifikation der Untersuchungstechnik:

Da das Vestibulum beim adulten Großen Ameisenbär eine Länge von durchschnittlich elf Zentimetern aufweist, und die Vagina nur durch Anhebung einer Schleimhautfalte erreichbar ist, konnten bei täglichen und routinemäßigen Untersuchungen vorwiegend Abstriche aus dem kranialen Vestibulum, bestenfalls aus dem Übergangsgebiet zur Vagina entnommen werden.

##### Folgende Zellen und Zellbilder liessen sich differenzieren:

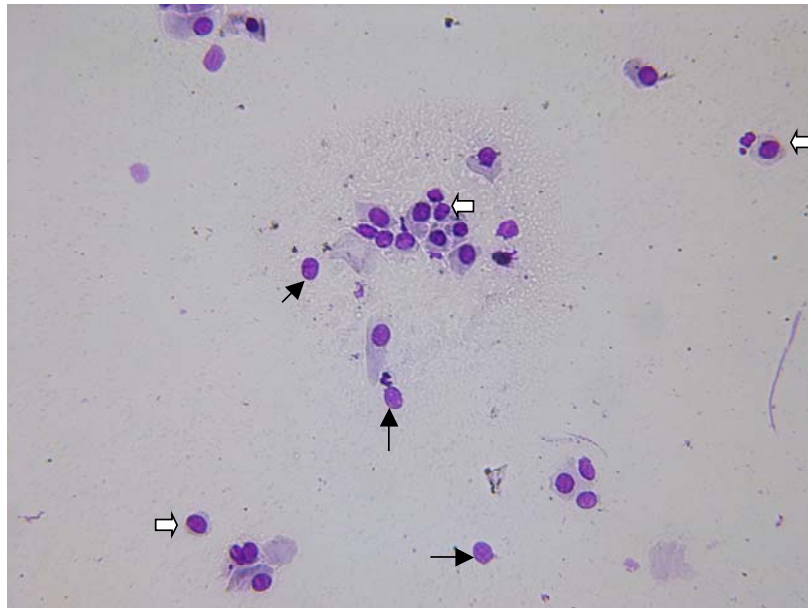
##### Basalzelle

Die Basalzelle hat einen Durchmesser von zirka 12 bis 14  $\mu\text{m}$  und stellt die kleinste Zelle des Vestibularabstriches dar (Abb. 7). Ihr Zellkern ist rund und nimmt fast den Raum der ganzen Zelle ein. Seine Größe liegt bei etwa 8-10  $\mu\text{m}$ . In der Methylenblau-Eosin-Schnellfärbung zeigt der Kern eine rötlich-violette körnige Struktur. Er wird von einem schmalen, heller gefärbten Zytoplasmasaum umgeben.

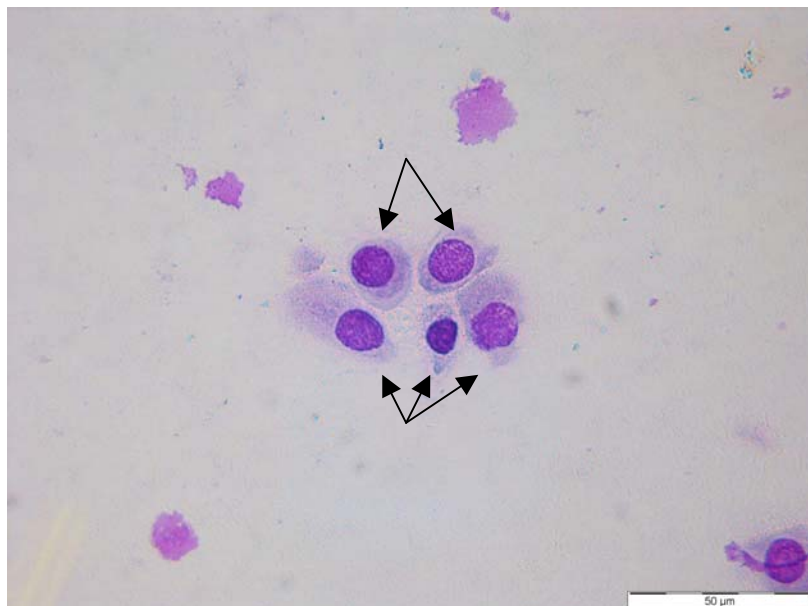
##### Parabasalzelle

Dieser Zelltyp besitzt eine runde bis ovale Form. Die Zelle ist jedoch etwas ausgedehnter (17 bis 19  $\mu\text{m}$ ) als die Basalzelle mit 12 bis 14  $\mu\text{m}$  (Abb. 7). Der Zellkern ähnelt dem der Basalzelle und liegt ebenso zentral. Bei diesem Zelltyp ist der Zytoplasma-Anteil, der den Kern umgibt, größer und hat ungefähr die Breite des Kerndurchmessers. Das Plasma ist heller und rötlich-violett gefärbt.





**Abb. 7: Abstrich aus dem Vestibularbereich eines Großen Ameisenbären zum Zeitpunkt des Interöstrus. Deutlich sind Basal- (schwarze Pfeile) und Parabasalzellen (weiße Pfeile) zu erkennen.**



**Abb.8: Basalzellen (schwarze Pfeile) zum Zeitpunkt des Interöstrus im vestibulo-vaginalen Abstrichmaterial eines Großen Ameisenbären.**

### Intermediärzelle

Die Größe dieser Zellart ist sehr unterschiedlich, so dass sich hohe und tiefe Intermediärzellen unterscheiden lassen. Die tiefe Intermediärzelle ist mit 20 bis 25  $\mu\text{m}$  etwas größer als die Parabasalzelle. Die hohe Intermediärzelle nimmt dagegen fast die Ausdehnung der Superficialzelle an (Abb. 8). Der Durchmesser der hohen Intermediärzelle beträgt 25 bis 35  $\mu\text{m}$  und die Form ist polygonal. Der Zellkern ist rötlich gefärbt, zirka 10  $\mu\text{m}$  groß und liegt oft im Randbereich der Zelle. Das Zytoplasma stellt sich hellblau dar.



**Abb. 9: Tiefe Intermediärzelle zum Zeitpunkt des Proöstrus im vestibularzytologischen Abstrichmaterial eines Großen Ameisenbären.**

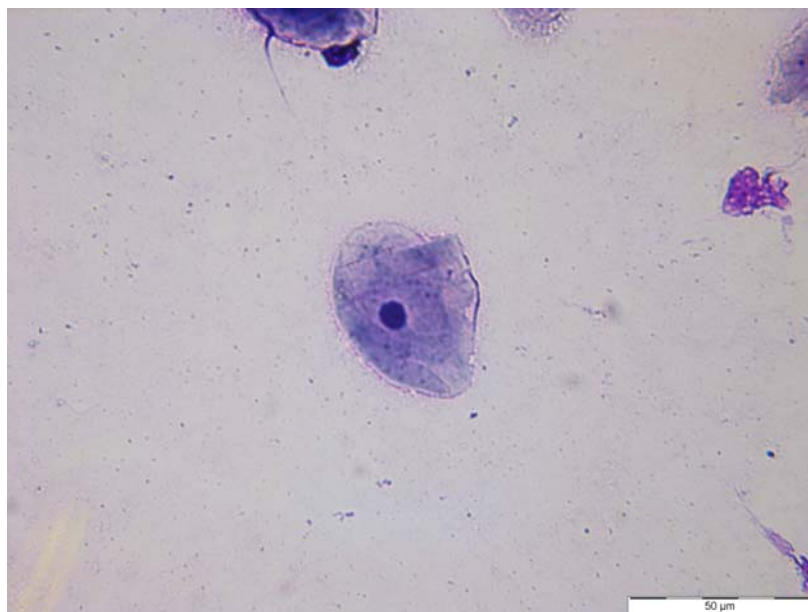
### Superfizialzelle

Bei der Superfizialzelle handelt es sich um eine sehr große Zelle. Sie kann eine Ausdehnung von bis zu 55 µm erreichen.

Zwei Gruppen sind zu unterscheiden:

Obere Superfizialzelle ohne Zellkern und untere Superfizialzelle mit Kernpyknose (Abb. 9). Der pyknotische Kern lässt sich nur noch schwach erkennen und besitzt keine inneren Strukturen mehr.

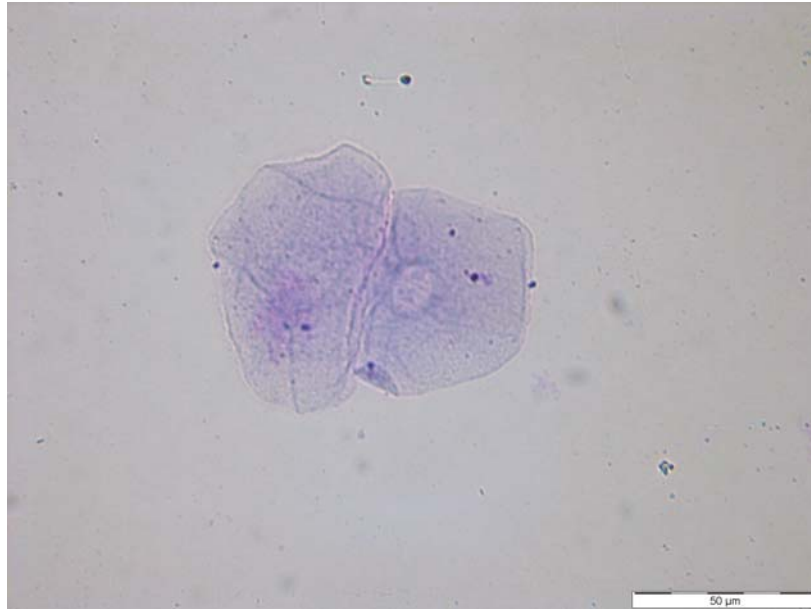
Die Form ist in beiden Gruppen polygonal und das Zytoplasma stellt sich sehr schwach blau-violett und transparent dar.



**Abb. 10: In der Bildmitte befindet sich eine untere Superfizialzelle mit pyknotischem Zellkern aus dem vestibularzytologischen Abstrichmaterial eines Großen Ameisenbären zum Zeitpunkt des späten Östrus.**

### Scholle

Als Scholle kann eine Zelle angesprochen werden, deren Rand sich aufwirft und sich kaum anfärben lässt (Abb. 10). Ein Zellkern ist nicht mehr vorhanden. Sie hat eine Größe zwischen 55 bis 65 µm.



**Abb. 11: Erkennbar sind zwei Schollen aus dem vestibularzytologischen Abstrichmaterial eines Großen Ameisenbären zum Zeitpunkt des Übergangs vom Östrus zum Interöstrus. Ihre Zellkerne sind nur noch schwach konfiguriert.**

### Übergangsformen

Im Laufe des Reifungsprozesses treten natürlich von all diesen Zellformen Übergangsstufen auf, die sowohl die Merkmale von jüngeren als auch die von älteren Zellen aufweisen können. Für die genaue Differenzierung sollte im Einzelfall abgewogen werden, welche Merkmale bei der Einzelzelle überwiegen, um sie dann einem entsprechenden Stadium zuordnen zu können.

### Modifizierte Zelle

Dabei handelt es sich um eine Zellform, in deren Zytoplasma Leukozyten eingewandert sind.

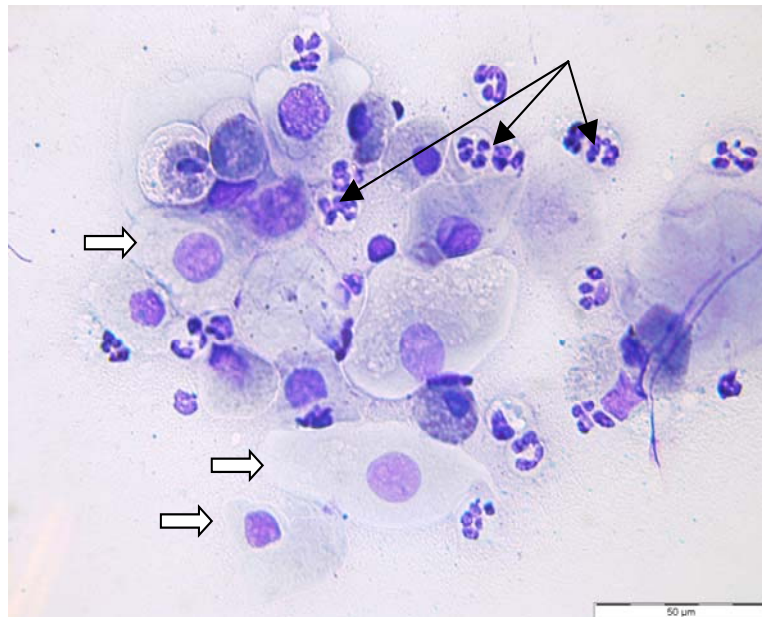


**Abb. 12:** Dargestellt sind modifizierte Zellen, zu bezeichnen als Intermediärzellen mit invadierten Leukozyten (schwarze Pfeile), aus dem vestibularzytologischen Abstrichmaterial eines Großen Ameisenbären zum Zeitpunkt des Interöstrus.

Immer wieder sind Leukozyten im Abstrichmaterial nachzuweisen, vorwiegend in der mittleren Östrusperiode.

Es hat sich als dienlich erwiesen, dieses Leukozytenvorkommen im Abstrichmaterial wie folgt zu klassifizieren:

0	keine Leukozyten vorhanden
+	ein vereinzelter Leukozyt im Ausstrich
++	vereinzelte Leukozyten (2-3) zu finden
+++	mehrere Leukozyten (durchschnittlich 10)
++++	zahlreiche Leukozyten
+++++	Leukozyten überwiegen das andere Zellmaterial

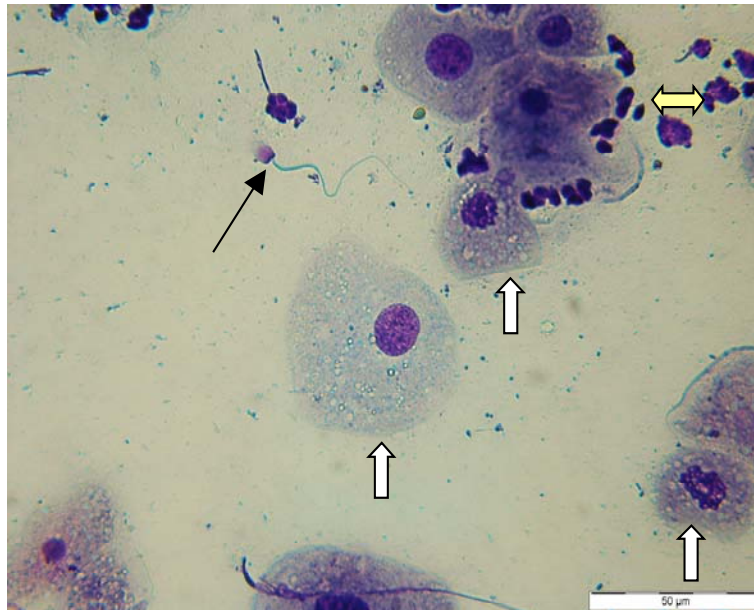


**Abb. 13: Freie Leukozyten (schwarze Pfeile) und Intermediärzellen (weiße Pfeile) im vestibularzytologischen Bild eines Großen Ameisenbären zum Zeitpunkt des Interöstrus.**

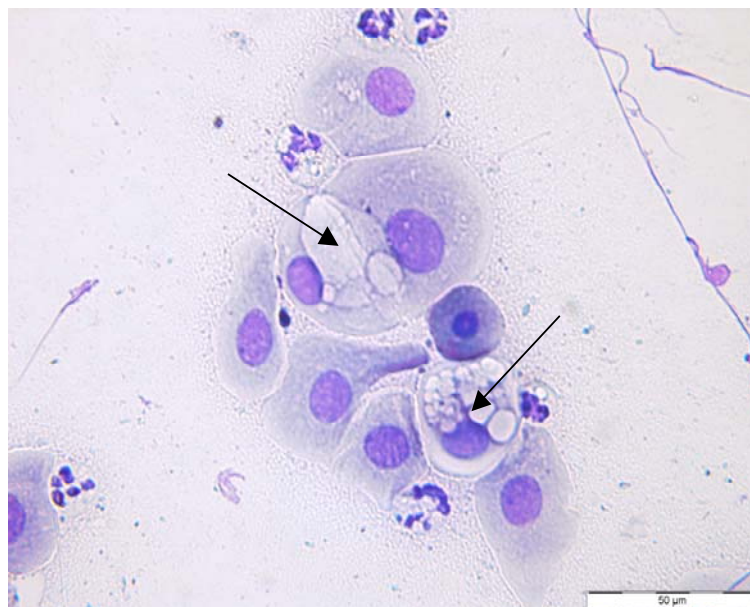
#### Schaumzelle

Dabei handelt es sich um einen Zelltyp, in dessen Zytoplasma Vakuolen eingelagert sind. Die Zelle sieht dadurch wie aufgeschäumt aus und ist beim Großen Ameisenbären charakteristisch für die Phase des Östrus. Ihr Vorkommen bestimmt in dieser Phase bis zu 80 % des Gesamtzellbildes.





**Abb. 14: Sichtbar sind Schaumzellen mit eingelagerten Vakuolen (weiße Pfeile), Leukozyten (gelber Pfeil) und ein Spermatozyt (schwarzer Pfeil) im vestibularzytologischen Abstrichmaterial eines Großen Ameisenbären zum Zeitpunkt des Östrus.**



**Abb. 15: Vakuolen unterschiedlichen Ausmaßes (schwarze Pfeile) im Zytoplasma von Intermediärzellen. Diese Zellen erhalten dadurch ein aufgeschäumtes Aussehen. Sie stammen aus dem vestibularzytologischen Abstrichmaterial eines Großen Ameisenbären zum Zeitpunkt des Interöstrus.**

**Tabelle 6: Tabellarische Darstellung der verschiedenen Zellformen und deren Morphologie aus dem vestibularzytologischen Abstrichmaterial Großer Ameisenbären:**

<b>Zellart</b> <b>Morphologie</b>	<b>Basal- zelle</b>	<b>Para- basal- zelle</b>	<b>Inter- mediär- zelle</b>	<b>Superfizial- zelle</b>	<b>Scholle</b>
<b>Zell- durchmesser</b>	12-14 µm	17-19 µm	25-35 µm	40-55 µm	55-60 (65) µm
<b>Zellform</b>	rund	rund oder oval	polygonal	polygonal	polygonal
<b>Kern- durchmesser</b>	8-10 µm	8-10 µm	10 µm	6 µm	ohne Zellkern
<b>Kernlage</b>	zentral	zentral	zentral oder am Rand	zentral oder am Rand	-
<b>Kernfärbung</b> <i>(Methylenblau- Eosin-Färbung)</i>	rot-violett	rot-violett	rötlich	blau-violett	-
<b>Zytoplasma- färbung</b> <i>(Methylenblau- Eosin-Färbung)</i>	bläulich- violett	bläulich- violett	bläulich- violett	heller blau	blassblau- transparent



#### 4.3.2 Einteilung der Zyklusphasen und Bestimmung der Zykluslänge anhand der vestibularzytologischen Befunde

##### Einteilung der Zyklusphasen

Für die Bestimmung der Länge eines einzelnen Zyklus wird der Tag, an dem keine Basal- und Parabasalzellen, sondern ausschließlich Intermediär- und Superfizialzellen nachweisbar sind, als „Tag 1“ des Östrus zugrunde gelegt. Der Abstand zwischen zwei Zyklen ergibt die Länge des *Gesamtzyklus*. Die koprologisch ermittelten Östrogen- und Progesteronwerte dienen konkordant hierzu der Einteilung der Zyklusphasen. Bei der Ermittlung der Zykluslänge durch die Hormonanalyse aus dem Kot wird das Intervall zwischen zwei Östrogenpeaks bestimmt.

Der Zyklus des Großen Ameisenbären lässt sich in folgende Phasen untergliedern:

Die Phase des Östrus ist als die Zeit anzugeben, in der keine Basal- und Parabasalzellen mehr im Abstrich nachweisbar sind. Im Östrus-Zellbild ist im Vergleich zu den anderen Zyklusphasen die Menge der Gesamtzellen mit Abstand am höchsten. Die Zellen liegen massenhaft auf dem Objektträger und bilden dichte Nester. Die scharfen Konturen der Oberflächenzellen verwischen sich, so dass diese Zellmasse amorph erscheint (Abb. 16 und 17). Der prozentuale Anteil der Intermediär- und der Superfizialzellen ist in diesem Zeitraum am größten (maximale Proliferation der Mukosa).

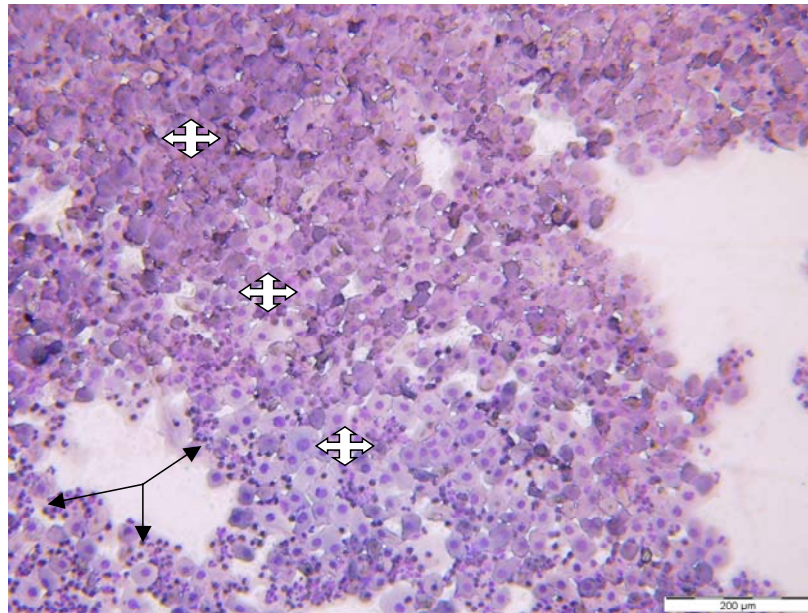
Der Hintergrund des Ausstrichs stellt sich schlierig dar (Abb. 18b), bedingt durch den abgesonderten Östrus-Schleim. Besonders in der mittleren Östrus-Phase erscheint vermehrt schleimiges Sekret im Abstrichmaterial. Gegen Ende des Östrus verringert sich die abgesonderte Menge des Sekrets wieder. In der sich anschließenden Interöstrus-Phase kann kaum noch schleimiges Sekret nachgewiesen werden.

Auffällig für die Östrus-Phase ist weiterhin der Nachweis zahlreicher (+++ bis +++) Leukozyten, deren Menge in keiner Zyklusphase so hoch wie im Östrus ist. Folglich erscheint eine große Zahl modifizierter Zellen. Dabei handelt es sich um Intermediärzellen, die im Zytoplasma eingeschlossene Leukozyten aufweisen. Die Leukozyten, vornehmlich neutrophile Granulozyten, wandern einzeln oder zu mehreren in die Zellen ein (Abb. 18a und 18b).

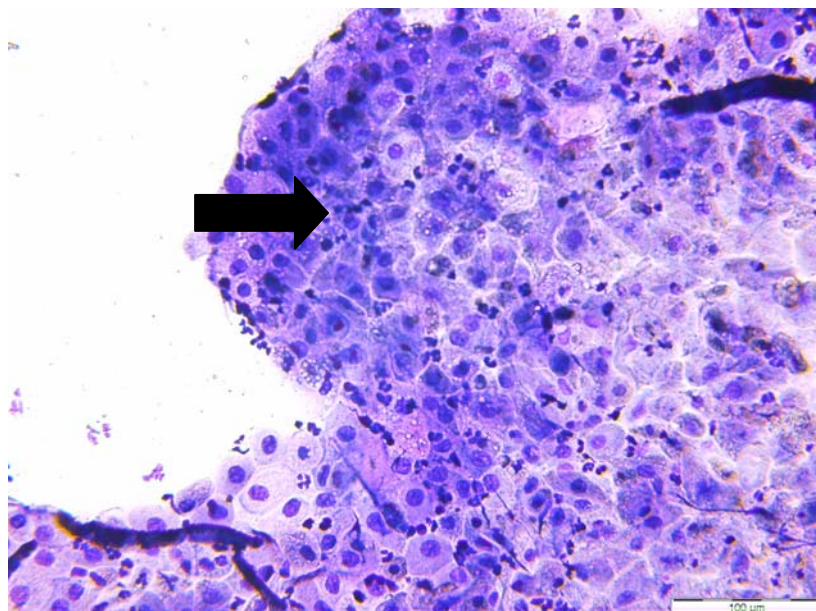
Charakteristisch für die Phase des Östrus ist zudem die große Menge (bis zu 80 % der Gesamtzellen) an Schaumzellen, also Zellen, in denen im Zytoplasma Vakuolen eingeschlossen sind und dadurch wie aufgeschäumt aussehen.

Intermediär- und Superfizialzellen sind mit einer Verteilung zwischen 70 zu 30% in der *frühen* Östrusphase und 60 zu 40 % in der *mittleren* Östrusphase vertreten. Im Verlauf der *mittleren* Östrusphase steigt der Anteil an kernlosen Superfizialzellen (70-80%), im Vergleich zu den Superfizialzellen mit Zellkern (20-30%), deutlich an: Liegt der Pyknoseindex bei 80 bis 90%, kann vom ovulationsnahen Bereich ausgegangen werden. Schollen erscheinen in dieser Phase in geringer Menge im Abstrichmaterial. In der *späten Östrusphase* liegt die Zahl der Superfizialzellen im Gesamtzellbild bei 80-90%, die Zahl der Schollen bei 10-20%. Andere Zellformen werden nicht mehr gefunden.

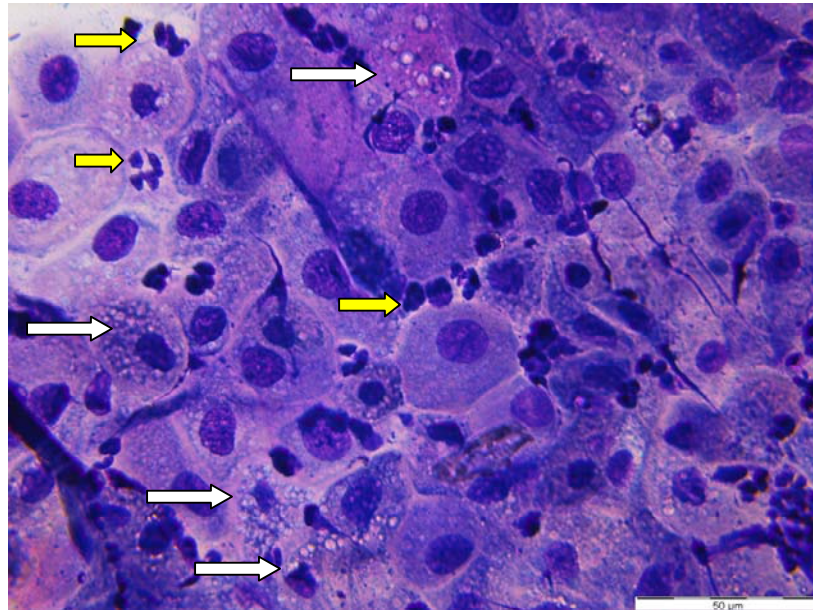
Erythrozyten können in der Übergangsphase von Proöstrus zu Östrus und auch in der *frühen* Östrusphase (35%), noch vereinzelt nachgewiesen werden. Im weiteren Verlauf des Östrus tauchen sie nicht mehr im Zellbild auf.



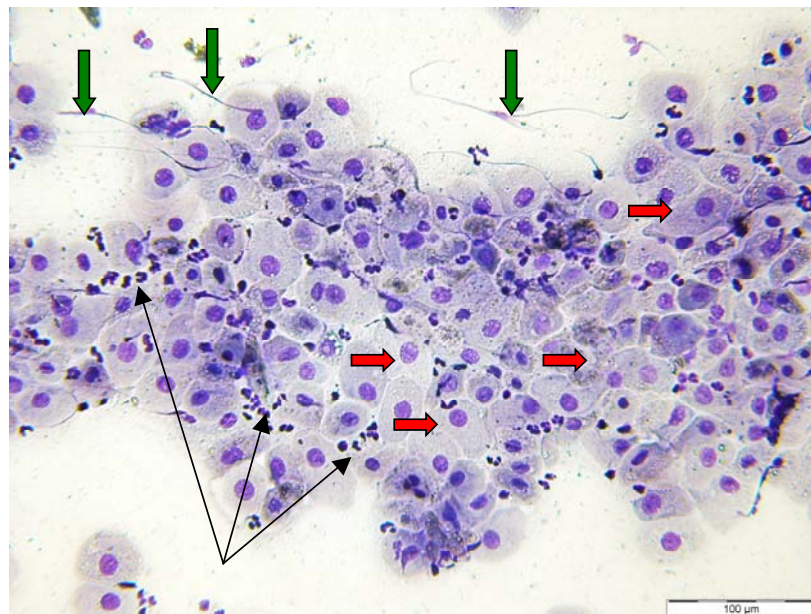
**Abb. 16: Übersichtsaufnahme (Vergrößerung 10x) des Zellbildes aus dem vestibulovaginalen Abstrichmaterial zum Zeitpunkt des Östrus beim Großen Ameisenbären. Leukozyten (schwarze Pfeile) und dichte Zellverbände (weiße Pfeile) sind deutlich sichtbar.**



**Abb. 17: Zellbild aus dem vestibulovaginalen Abstrichmaterial eines Großen Ameisenbären zum Zeitpunkt des Östrus. Ein sehr dichter Zellverband ist erkennbar (Vergrößerung 10x).**



**Abb. 18a: Vestibulovaginales Zellbild aus der Östrusphase eines Großen Ameisenbären (Vergrößerung 50x). Sichtbar sind Schaumzellen (weiße Pfeile) und Leukozyten (gelbe Pfeile).**



**Abb.18b: Zellbild aus der mittleren Östrusphase eines Großen Ameisenbären (Vergrößerung 20x). Schlieren (grüne Pfeile), Superfizialzellen (rote Pfeile) und zahlreiche Leukozyten (schwarze Pfeile) sind für diese Phase charakteristisch.**

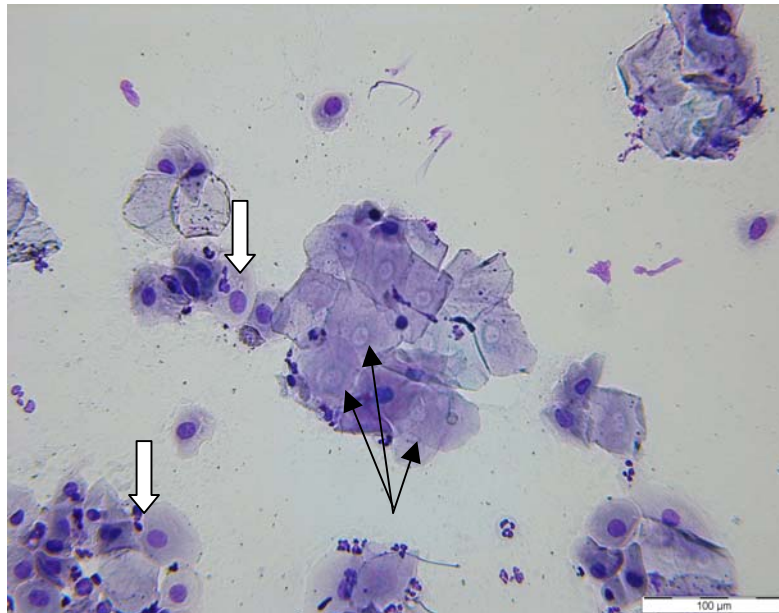
Zunächst bestimmt im Anschluss an den Östrus eine *Übergangsphase* das Zellbild. Sie ist gekennzeichnet durch die Entkolonialisierung der Superfizialzellen und Schollen sowie durch das Weiterwerden der Abstände zwischen den einzelnen Schollen-Inseln. Die dem Östrus folgenden Phasen *Metöstrus* und *Diöstrus* können zusammengefasst als *Interöstrusphase* bezeichnet werden.

In der Phase des *Interöstrus* kehrt sich das Zellbild langsam wieder um. Die Epithelzellen der oberen Schichten sinken zahlenmäßig ab, die Zellen der unteren Epithelschichten nehmen dagegen zu, was die Abflachung der Schleimhaut charakterisiert. Im Verlauf kann dabei zwischen *frühem*, *mittlerem* und *spätem Interöstrus* unterschieden werden.

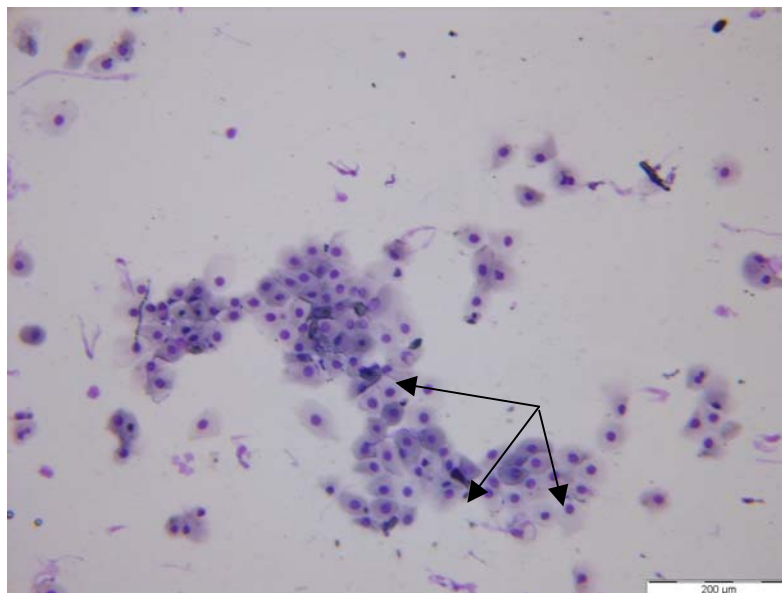
In der frühen Interöstrusperiode (Abb. 19) bestimmen zu 20% die Basal- und Parabasalzellen das Bild. Umgekehrt proportional verhalten sich die Intermediärzellen und beherrschen mit 60 % das Gesamtzellbild. Superfizialzellen treten in dieser Zyklusphase mit 20 % auf. Im Verlauf des mittleren Interöstrus splittet sich das Verhältnis von Basal-/Parabasalzellen : Intermediärzellen : Superfizialzellen auf und zeigt am Ende dieser Phase folgende prozentuale Verteilung: 50:40:10 (Abb. 20).

Die Zahl der Leukozyten, die im frühen Interöstrus noch verhältnismäßig hoch ist, sowie die Zahl der modifizierten Zellen und die der Schaumzellen nimmt im Verlauf des mittleren Interöstrus kontinuierlich ab.



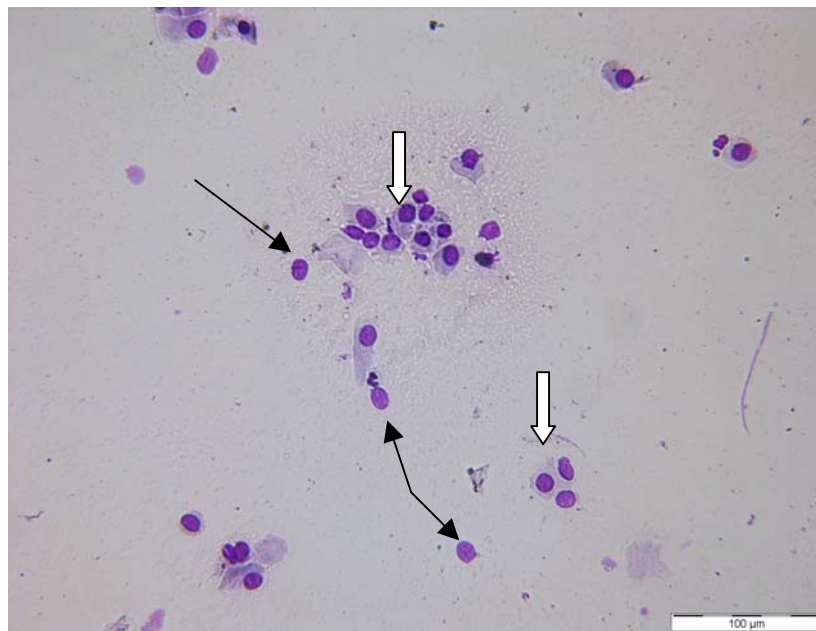


**Abb. 19: Zellbild in der frühen Phase des Interöstrus beim Großen Ameisenbären (Vergrößerung 20x). Superfizialzellen mit Kernauflösung (schwarze Pfeile) und Intermediärzellen (weiße Pfeile) sind für diese Phase charakteristisch.**



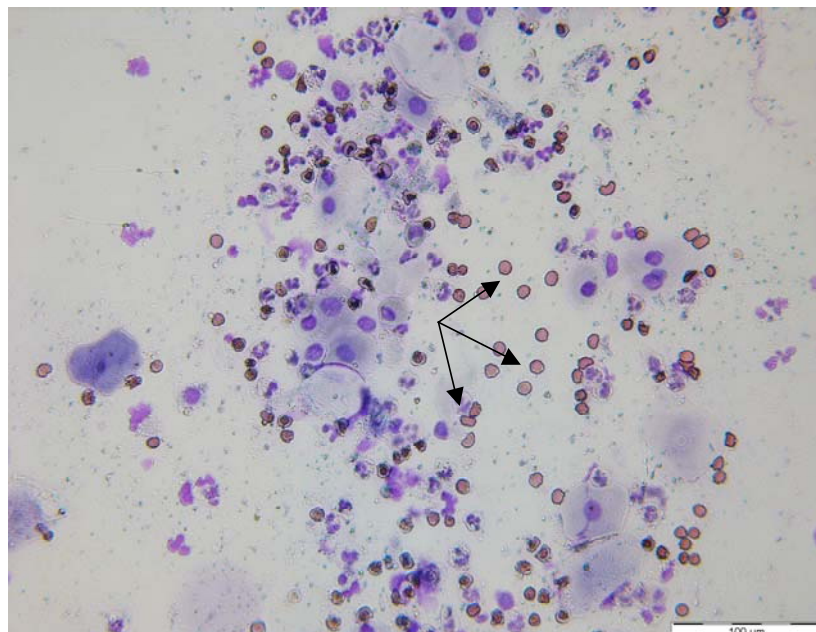
**Abb. 20: Das Zellbild kehrt sich im Verlauf des Interöstrus beim Großen Ameisenbären wieder um. Der Anteil der Epithelzellen aus den oberen Schichten sinkt und der der unteren nimmt zu (Vergrößerung 10x). Die schwarzen Pfeile weisen auf Intermediärzellen hin.**

Das Zellbild der anschließenden *späten Interöstrusphase* ist gekennzeichnet durch das Vorherrschen von Basal- und Parabasalzellen, das zu zirka zwei Dritteln von ihnen bestimmt wird. Intermediärzellen machen das letzte Drittel aus. Andere Zelltypen sind in dieser Phase nicht oder nur vereinzelt zu ermitteln.



**Abb. 21: Das vestibulovaginale Zellbild in der späten Interöstrusphase beim Großen Ameisenbären (Vergrößerung 20x). Basal- (schwarze Pfeile) und Parabasalzellen (weiße Pfeile) beherrschen das Zellbild.**

Die Phase des Proöstrus ist die Phase, in der die Menge der Basal- und Parabasalzellen kontinuierlich ab- und parallel dazu die Menge der Intermediär- und Superfizialzellen in gleichem Maße zunimmt. Dazu erscheinen als typischer Anteil des Zellbildes Erythrozyten, die in der frühen Proöstrusphase in dichten Verbänden, in der späten Phase aber nur noch vereinzelt sichtbar sind (Abb. 22). Zu Beginn der frühen Proöstrusphase werden im Zellbild gemeinsam Basal- und Parabasalzellen sowie Intermediärzellen zu fast gleichen Anteilen sichtbar, mit einer durchschnittlichen Verteilung von 60 zu 40 %. Gegen Ende der Proöstrusphase splittet sich der Anteil der Basal-/Parabasalzellen, der Intermediärzellen und der Superfizialzellen anteilig wie folgt auf: 25:50:25. In dieser Phase proliferieren die oberen Zellschichten.



**Abb. 22: Zellbild aus dem vestibulovaginalen Abstrichmaterial in der Phase des Proöstrus beim Großen Ameisenbären. Erythrozyten sind in charakteristischer Menge nachweisbar (schwarze Pfeile) (Vergrößerung 20x).**



Tab. 7: Zytologische, hormonelle und klinische Daten im Verlauf des Reproduktionszyklus des weiblichen Großen Ameisenbären in zusammenfassender Darstellung:

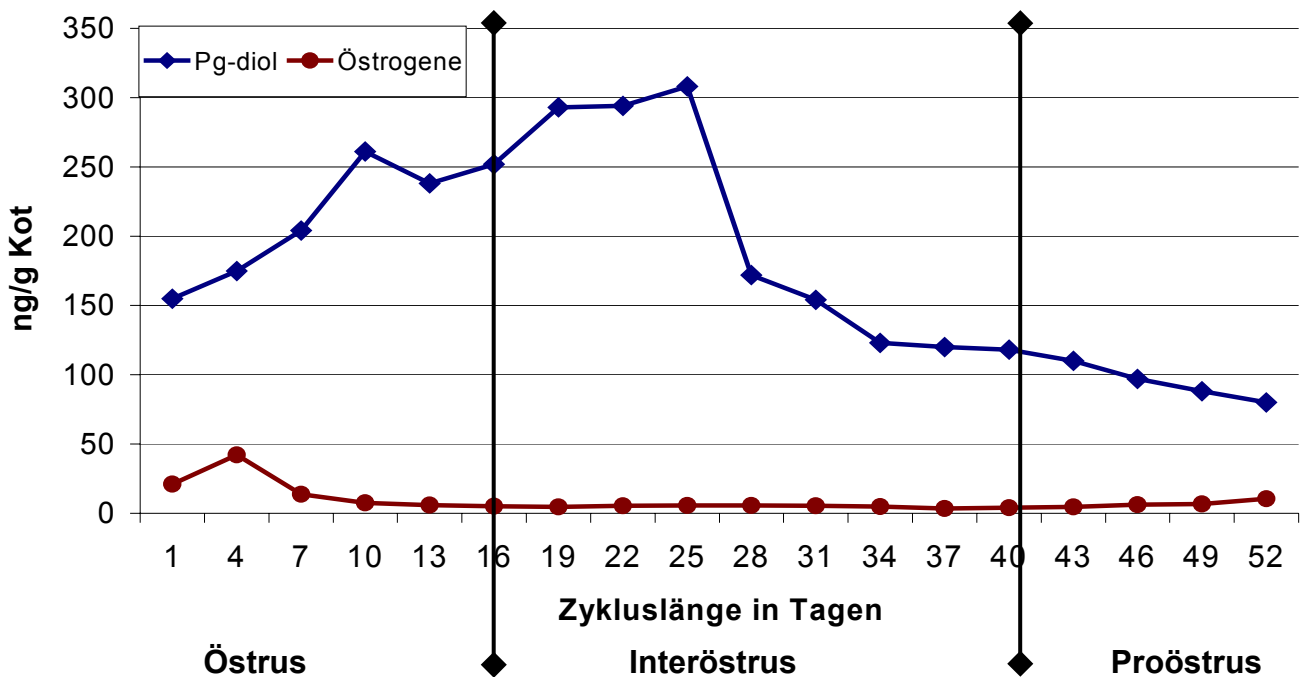
Tag 0 des Zyklus



Zyklus- phase	Östrus		Interöstrus			Proöstrus	
	früh	spät	früh	mittel	spät	früh	spät
<b>Zellart und Verteilung im Gesamt-Zellbild in %</b>	Basal-/Parabasal- : Intermediär- : Superfizialzellen 0:60:40		Basal-/Parabasal- : Intermediär- : Superfizialzellen 20:60:20    50:40:10    70:30:0			Basal-/Parabasal- zellen : Intermediärzellen 60:40	
<b>Erythro- zyten</b>	(+) )					(+) + +++ ++ +	
<b>Leukozyten</b>	(+) + ++ +++ +++++ +++ ++		++ + (+) vereinzelt			vereinzelt	
<b>Schleimiges Sekret</b>	+ ++ +++ +++++ ++		+ (+)			(+) +	
<b>Schleimhaut- Kolorit</b>	hellrosa rosarot-gerötet		hell-    blassrosa			blassrosa	
<b>Vulva- Schwellung</b>	++    +++    ++(+)		++ + (+)			(+) +	

### Hormonstatus

Messung der Progesteron- (Pg-diol) und Östrogenmetaboliten in ng/g Kot



### **Bestimmung der Zykluslänge beim Großen Ameisenbär:**

Im Zeitraum von zwei Jahren standen sechs Probandinnen für die Kontrolle zur Verfügung. Dabei konnten insgesamt 31 komplette Einzelzyklen, 40 Proöstrus- und Östrusphasen sowie 32 Interöstrusphasen bestimmt werden. Zwei der ermittelten Interöstrusphasen waren zeitlich verlängert. Ein sehr altes Weibchen (Wildfang von 1988) zeigte während des Untersuchungszeitraums keine Anzeichen eines Zyklusgeschehens. Bei der vaginalzytologischen Untersuchung der fünf verbliebenen Tiere wurde folgender Idealzyklus ermittelt:

Der *Idealzyklus* beim Großen Ameisenbären hat im Mittel eine Gesamtlänge von **51,3 ± 2,8** Tagen, der sich wie folgt in die einzelnen Phasen aufteilt, wobei die vollen Tage angegeben werden. Die exakten Zahlen sind in Tabelle 8 verzeichnet.

Die Phase des *Östrus* weist eine durchschnittliche Dauer von  $16 \pm 5$  Tagen auf. Der sich anschließende *Interöstrus* dauert im Mittel  $25 \pm 3$  Tage.

Die Länge des *Proöstrus* beträgt im Schnitt  $11 \pm 4$  Tage.

**Tab. 8: Durchschnittliche Länge der einzelnen Zyklusphasen und des Gesamtzyklus mit der Standardabweichung:**

<b>Zyklusphase</b>	<b><math>\bar{x} \pm s</math></b>
Östrus	$16,0 \pm 4,8$ (n=40)
Interöstrus	$24,7 \pm 2,9$ (n=30)
Proöstrus	$10,9 \pm 4,0$ (n=40)
<b>Vestibularzytologisch ermittelte Gesamtzykluslänge</b>	<b><math>51,3 \pm 2,8</math> (n=31)</b>
<b>Hormonanalytische Ergebnisse zur Zykluslänge</b>	<b><math>56,2 \pm 17,4</math> (n=13)</b>

Für die Ermittlung der Zykluslänge durch die Hormonanalyse aus dem Kot diente das Intervall zwischen zwei Östrogenpeaks. Dabei ergab sich im Untersuchungsergebnis eine mittlere Zykluslänge von  $56,2 \pm 17,4$  (n=13) Tagen. Dieses Resultat weicht nur wenig von dem, welches mittels vestibularzytologischer Untersuchung mit  $51,3 \pm 2,8$  Tagen ermittelt wurde, ab (Tab.8).

Unter den Haltungsbedingungen in zoologischen Gärten wird eine Saisonalität des Zyklusgeschehens bei den Großen Ameisenbären in Mitteleuropa nicht beobachtet.

#### Abweichungen vom Idealzyklus:

Vom idealen Zyklusverlauf mit einer Länge von  $51,3 \pm 2,8$  Tagen kommt es zu individuellen Abweichungen.

Ein weiblicher Großer Ameisenbär zeigte während des gesamten Untersuchungszeitraums keine Veränderungen im vestibularzytologischen Abstrichmaterial. Das histologische Bild wurde ausschließlich von Basal- und Parabasalzellen beherrscht. Dieses Weibchen hatte aufgrund seines fortgeschrittenen Alters offenbar seine Zyklusaktivität eingestellt und war azyklisch (Menopause).

Bei einem juvenilen Tier konnte eine Verkürzung der Zykluslänge beobachtet werden. Die zwei bei diesem Tier beobachteten Östruszyklen hatten eine Dauer von nur 38 beziehungsweise 45 Tagen.

Zwei weitere, ältere weibliche Ameisenbären zeigten dagegen eine verlängerte Diöstrusphase. Die jeweiligen Zyklen hatten Längen von 98 und 119 Tagen. Bei diesen Tieren lag der Verdacht auf embryonalen Tod oder der unbemerkten Abortes der Früchte nahe. Diese Weibchen durchliefen eine Kohabitationsphase, an die sich eine diöstrische Ruhephase anschloss, wobei diese als vermeintliche Gravidität angesehen wurde. Eine erneute zyklische Aktivität war bei einer Ameisenbärin nach 98, bei der anderen nach 199 Tagen zu beobachten. Die Annahme der Gravidität ergab sich, da Spermien im Abstrichmaterial gefunden wurden und somit ein begründeter Hinweis gegeben war, dass eine Kohabitation stattgefunden haben musste.

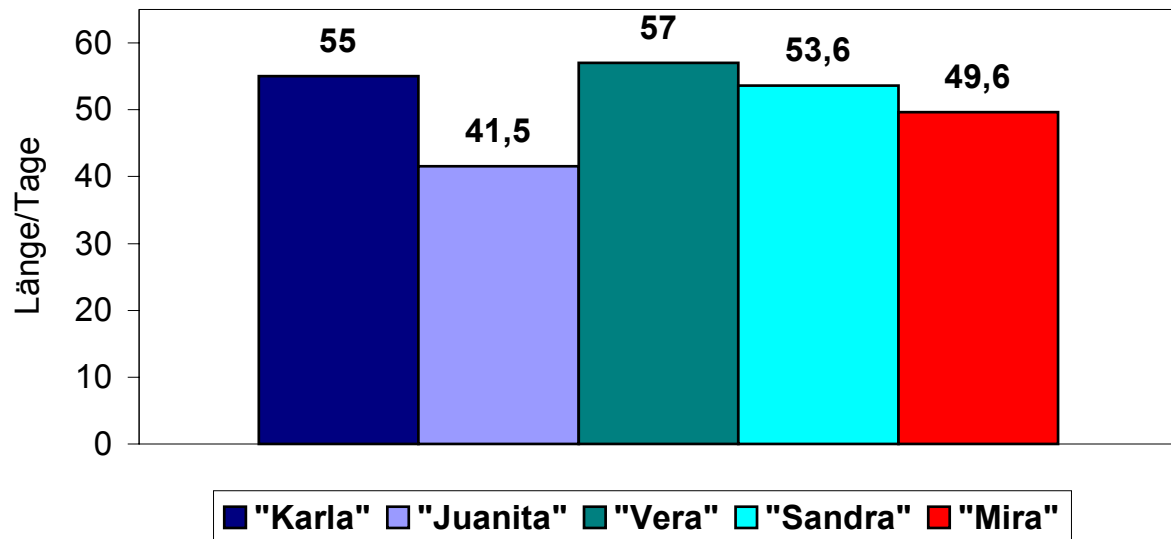
Tabelle 9 zeigt die Einzeldarstellung der registrierten Zyklen des jeweiligen weiblichen Großen Ameisenbären.

**Tab. 9: Tabellarische Übersicht über die durchschnittliche Länge des Zyklus und seiner Phasen beim Großen Ameisenbär:**

<b>Individuum</b> <b>Zyklusphase</b>	<b>Zyklus(phasen)länge in Tagen</b>											<b>Mittelwert</b>	<b>Standardabweichung</b>
<b>"Karla"</b>													
Östrus	24	12	23	19	13	15	20	17	14			17,4	4,3
Interöstrus	18		20	30	20		41	27	15			24,4	9,0
Proöstrus	15	12	8	13	7	13	5	10	9			10,2	3,3
<b>Zykluslänge</b>	<b>57</b>		<b>51</b>	<b>62</b>	<b>40</b>		<b>66</b>	<b>54</b>				<b>55,0</b>	<b>9,1</b>
<b>"Mira"</b>													
Östrus	6	10	10	15	15	15	11	11				11,6	3,2
Interöstrus	29	17	24	28	27	88						37,2 (27,0)	25,7 (7,3)
Proöstrus	11	9	15	15	9	16	8	7				11,2	3,6
<b>Zykluslänge</b>	<b>46</b>	<b>36</b>	<b>49</b>	<b>56</b>	<b>61</b>	<b>119</b>						<b>61,2</b>	<b>29,6</b>
												<b>49,6</b>	<b>9,6</b>
<b>"Sandra"</b>													
Östrus	20	27	21	19	24	20	14	22	16	22	14	19,9	4,0
Interöstrus	22	22	24	29	18	17	20	18	25	23		21,8	3,7
Proöstrus	10	11	11	7	14	10	18	14	13	5	8	11,0	3,7
<b>Zykluslänge</b>	<b>52</b>	<b>60</b>	<b>56</b>	<b>55</b>	<b>56</b>	<b>47</b>	<b>52</b>	<b>54</b>	<b>54</b>	<b>50</b>		<b>53,6</b>	<b>3,6</b>
<b>"Vera"</b>													
Östrus	13	9	16	17	22	19	21	19	6			15,8	5,4
Interöstrus	32	40	41	32	28	17	68					36,9 (31,7)	15,9 (8,8)
Proöstrus	18	7	8	7	11	15	11	7	15			11,0	4,1
<b>Zykluslänge</b>	<b>63</b>	<b>56</b>	<b>55</b>	<b>56</b>	<b>61</b>	<b>51</b>	<b>98</b>					<b>62,9</b>	<b>16,0</b>
												<b>57,0</b>	<b>4,3</b>
<b>"Juanita"</b>													
Östrus	20	12	14									15,3	4,2
Interöstrus		21	17									19,0	2,8
Proöstrus	14	5	14									11,0	5,2
<b>Zykluslänge</b>		<b>38</b>	<b>45</b>									<b>41,5</b>	<b>4,9</b>

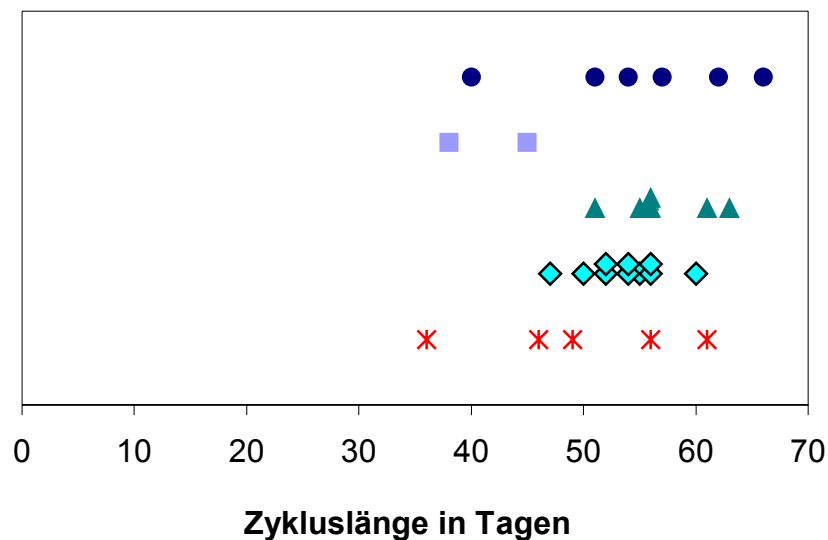
Die Große Ameisenbärin „**Argentina**“ zeigte während des gesamten Untersuchungszeitraums keine Zyklusaktivität. Das Abstrichmaterial wurde ausschließlich von Basal- und Parabasalzellen beherrscht.

In Abbildung 23 wird die durchschnittliche individuelle Zykluslänge von fünf weiblichen Großen Ameisenbären graphisch dargestellt. Dabei schwankt die Länge des Zyklus zwischen 41,5 und 57 Tagen bei den einzelnen Individuen.



**Abb. 23: Durchschnittliche individuelle Zykluslänge von 5 Großen Ameisenbären jüngeren und mittleren Alters.**

In Abbildung 24 wird die Verteilung der individuellen Zykluslänge in Tagen der fünf weiblichen Großen Ameisenbären dargestellt. Dabei gelangen 29 Einzelzyklen zur Auswertung. Eine deutliche individuelle Varianz der Zykluslängen zwischen jüngeren und älteren Tieren ist erkennbar.



<u>Farblegende:</u>	„Karla“ (geboren 1989)	dunkelblau
	„Juanita“ (geboren 2000)	lila
	„Vera“ (geboren 1995)	grün
	„Sandra“ (geboren 1994)	türkis
	„Mira“ (geboren 1992)	rot

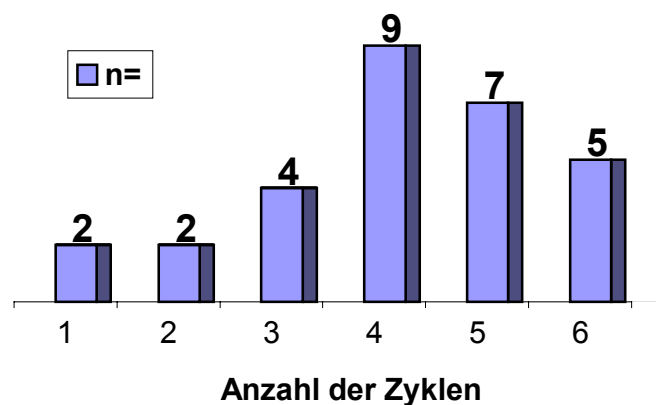
**Abb. 24: Verteilung der individuellen Zykluslänge von 29 Zyklen in Tagen (Verteilungskurve)**

In Tabelle 10 wird die Länge der 29 Einzelzyklen in Tagen und deren Anzahl gegeneinander aufgezeigt. Es wird deutlich, dass Zyklen mit Längen von 51-55 (n=9) und von 56-60 Tagen (n=7) am häufigsten vertreten sind.

**Tab. 10: Zykluslänge des Großen Ameisenbären in Tagen und die Anzahl der Zyklen:**

Zykluslänge in Tagen	<40	40-45	46-50	51-55	56-60	>60
Anzahl der Zyklen n=	2	2	4	9	7	5

Abbildung 25 zeigt die Untergliederung der Zykluslängen in Zeitgruppen. Eine rechtsschiefe Verteilung ist erkennbar.



Zykluslänge in Tagen : 1= <40  
 2= 40-45  
 3= 46-50  
 4= 51-55  
 5= 56-60  
 6= >60

**Abb. 25: Untergliederung der Zykluslängen in Zeitgruppen**

#### 4.3.3 Darstellung der Zykluslänge anhand von Hormonmetaboliten im Kot

Für die Erstellung der Hormonprofile von den Großen Ameisenbären „Argentina“, „Sandra“ und „Juanita“ wurden im Zeitraum von März 2001 bis Oktober 2001 zweimal wöchentlich Kotproben für die Analyse gesammelt. Die Sammlung der Kotproben von „Karla“, „Mira“ und „Vera“ erfolgte bis Mai 2002.

##### Zykluslänge:

Für die Ermittlung der Zykluslänge durch die Hormonanalyse aus dem Kot wurde das Intervall zwischen zwei Östrogenpeaks berechnet, wodurch eine Zykluslänge von **56,2 ± 17,4** (n=13) Tagen festzulegen war. Das Ergebnis entspricht in etwa der Zyklusfestlegung auf der Grundlage von vestibularzytologischen Untersuchungen mit der Länge von 51,3 ± 2,8 Tagen (Tab.8).

**Tab. 11: Hormonanalytische Festlegung der Zykluslänge beim Großen Ameisenbären mit Angabe der Mittelwerte in Tagen**

<b>Individuum</b> <b>Zyklus- länge in Tagen</b>	<b>„Karla“</b>	<b>„Mira“</b>	<b>„Sandra“</b>	<b>„Vera“</b>
	54	46	54	50
	52	51	51	64
	48	34	70	
		(107)	50	
<b><math>\bar{x} \pm s</math></b>	<b>51,3 ± 3,0</b>	<b>59,5 ± 32,5</b>	<b>56,2 ± 9,3</b>	<b>57,0 ± 9,9</b>
<b><math>\bar{x} \pm s</math> (n=13)</b>	<b>56,2 ± 17,4</b>			



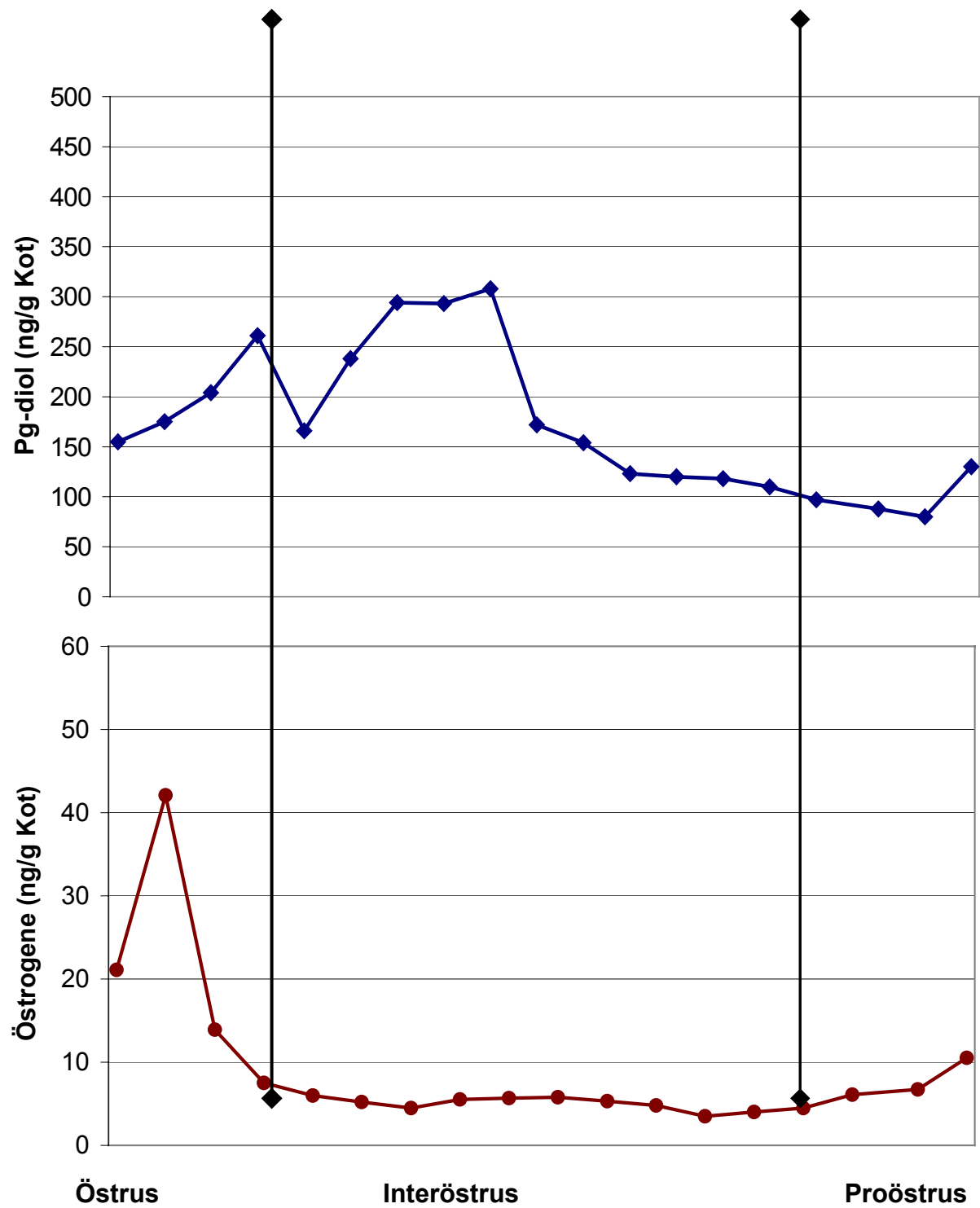
Der mittlere Östrogenwert lag bei etwa 7,6 ng/g Kot, mit einer individuellen Schwankungsbreite von 1,2 bis 17,9 ng/g Kot. Am Tag Null, also am ersten Tag des Östrus, erreichte die Östrogenkonzentration Spitzenwerte von durchschnittlich 43,7 ng/g Kot (23 bis 70 ng/g Kot). Nach dem Östrogen-Peak fielen die Konzentrationen unmittelbar wieder auf den Wert von 7,6 ng/g Kot ab.

Für jeden Zyklus wurde der Tag, an dem die höchste Östrogenkonzentration gemessen wurde, als Tag Null bestimmt. Der Östrogenwert wurde aus den mittleren Konzentrationen der Kotproben errechnet, die zwischen den Tagen 10 und 35 und den Tagen -14 und -10 des Zyklus gesammelt wurden. Bei diesem Zeitraum handelte es sich um die Phase des Interöstrus. Der Progesteronwert wurde ermittelt aus den Kotproben, die zwischen Tag 28 und 35 und Tag -14 und 0 des Zyklus gesammelt wurden. Bei diesen Phasen handelte es sich um die Phasen des Interöstrus beziehungsweise Proöstrus.

Nach dem jeweiligen Östrogenpeak konnte ein präovulatorischer Progesteronanstieg ermittelt werden (Tab. 7). Zeitversetzt zum Östrogenpeak und dem anschließenden Abfall der Östrogene erfolgte, mit einer Verzögerung von etwa 10-20 Tagen, der Anstieg der Progesteronwerte. Die Basislinie für das Progesteron, also keine Aktivität des Corpus luteum, lag im Mittel bei 93 (80 bis 110) ng/g Kot. Während der Lutealphase stieg die Konzentration auf 270 (200 bis 860) ng/g Kot.

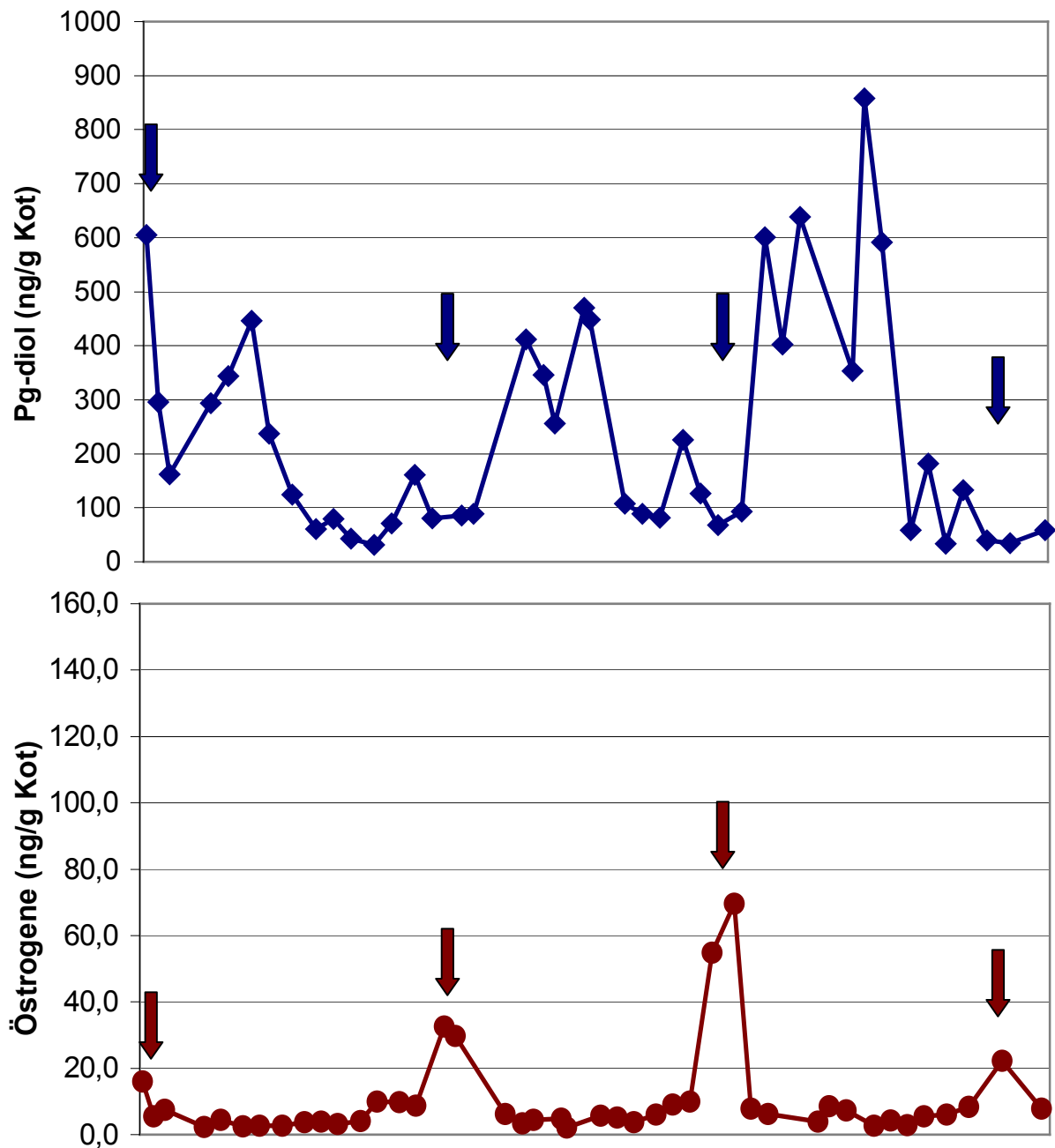
Die *Gesamt-Zykluslänge* von **56,2 ± 17,4** Tagen anhand der Östrogen- und Progesteronwerte, teilt sich auf in die *östrogendominante Phase*, mit einer durchschnittliche Länge zwischen 7-14 Tagen, gefolgt von der *Corpus-luteum-Phase*, die im Mittel zwischen 28 und 42 Tagen andauert.

Nachfolgend seien sowohl die Standardkurven (Abb. 26) für die Östrogen- und Progesteron-Mittelwerte aller zum Zeitpunkt der Untersuchung ingraviden Ameisenbären als auch die Einzel-Diagramme (Abb. 27-31) dieser Tiere dargestellt. In den Diagrammen wurden die Progesteronwerte (Pg-diol) in ng/g Kot und die Östrogenwerte in ng/g Kot für jedes untersuchte Tier aufgezeigt. Die Spanne für den Progesteronwert reichte in den Darstellungen von null bis teilweise 860 ng/g Kot, die Werte der Östrogene reichten von null bis 150 ng/g Kot.



**Abb. 26: Wiedergabe der Östrogen- und Progesteron-Mittelwerte im Zyklusverlauf ingravider Ameisenbären**

## „Karla“



**Abb. 27:** Wiedergabe der Progestagen- (Pg-diol) (blaue Kurve) und Östrogenwerte (rote Kurve) der Großen Ameisenbärin „Karla“ im Zeitraum der Probenahme vom 01.03.2001 bis zum 09.08.2001.

Die Pfeile geben die vestibularzytologisch ermittelten Östrus-Zeitpunkte an.

*Karla“:*

Die Hormonanalyse für diese Große Ameisenbärin ergab zu Beginn der Untersuchung regelmäßige Östrogen-Peaks. Am 1. März konnte ein Östrogen-Peak mit einem Wert von 16 ng/g Kot gemessen werden. Der nächste Östrogen-Maximalwert erschien im Abstand von 54 Tagen, am 24. April mit einem Wert von 33 ng/g Kot. 52 Tage später erfolgte ein weiterer Peak und zwar am 11. Juni mit einem Wert von 70 ng/g Kot. Am 1. August, im Abstand von 48 Tagen, zeichnete sich wiederum ein Höchstwert ab. Die Menge betrug in diesem Fall 22 ng/g Kot. Durchschnittlich ergab sich zwischen den Östrogen-Maximalwerten ein Abstand von 51 Tagen.

Nach dem Östrogen-Maximalwert stiegen die Progesteronwerte sprunghaft auf Mengen zwischen 300 und 860 ng/g Kot. Die Basislinie lag bei 91 ng/g Kot.

Das Ergebnis der Kotprobenanalyse entsprach dem Resultat der Zytodiagnostik. Für den Zeitraum vom 18. Februar bis zum 13. März konnte eine Östrusperiode ermittelt werden. Der Östrogen-Peak vom 1. März fiel in diesen Zeitraum. Das Gleiche galt für den Zeitraum 15. April bis 2. Mai und dem Östrogen-Maximalwert am 22. April. Der Östrogenwert vom 11. Juni entsprach der Östrusperiode vom 8. bis 20. Juni.

## „Mira“

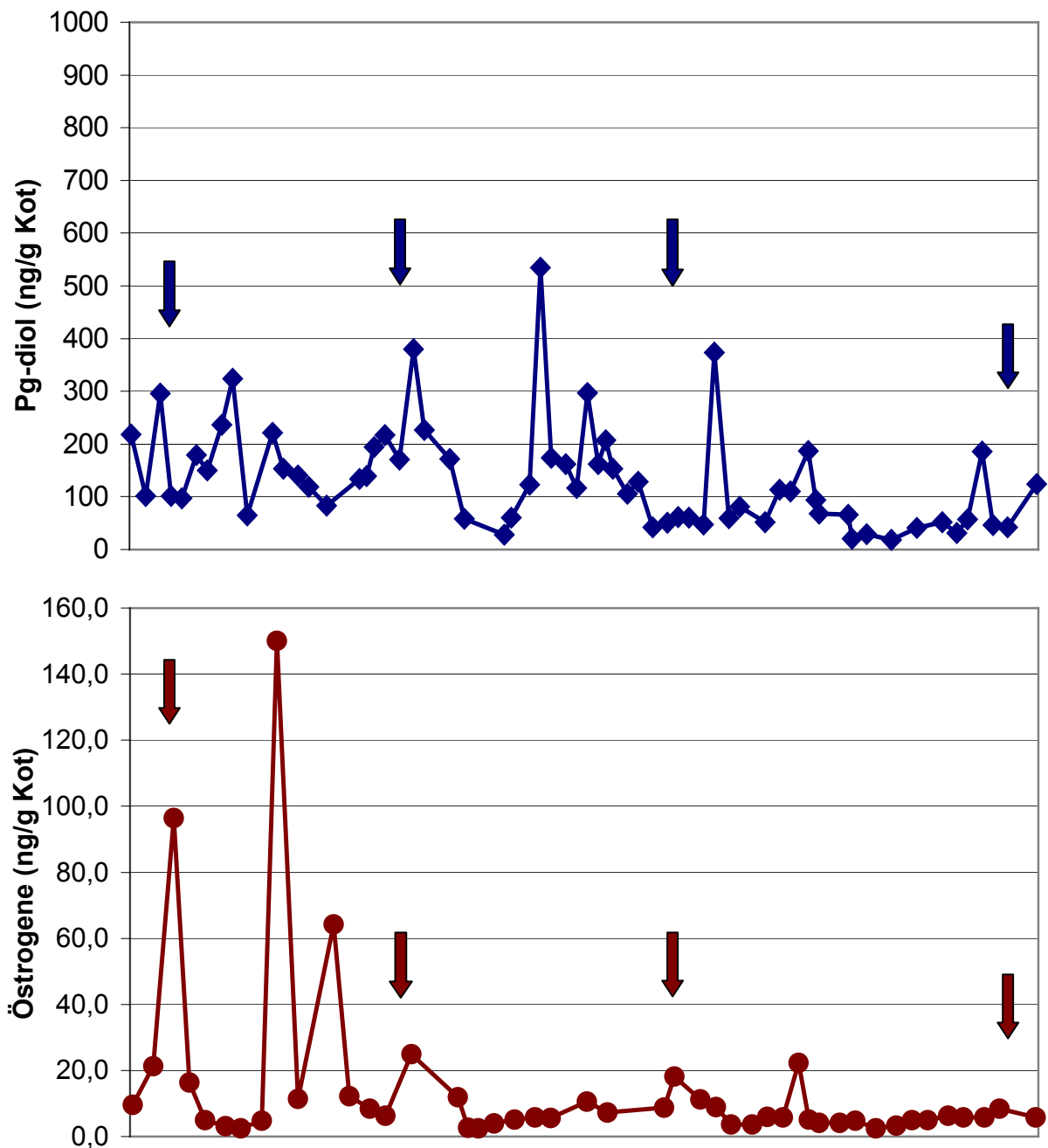


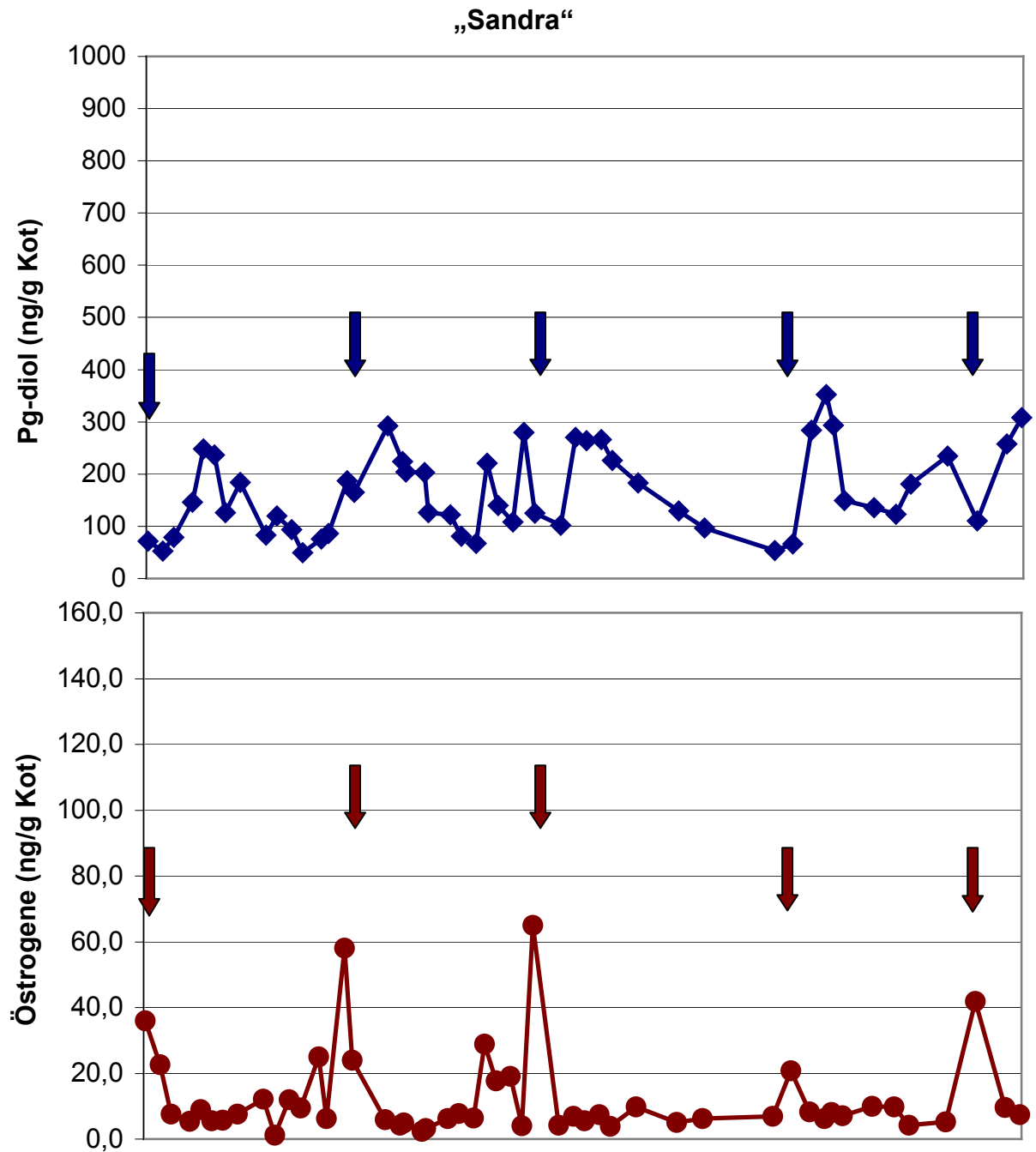
Abb. 28: Wiedergabe der Progesteron- (Pg-diol) (blaue Kurve) und Östrogenwerte (rote Kurve) der Großen Ameisenbärin „Mira“ im Zeitraum der Probennahme vom 01.03.2001 bis zum 23.08.2001.

Die Pfeile geben die vestibularzytologisch ermittelten Östrus-Zeitpunkte an.

„Mira“:

Dieser Große Ameisenbär zeigte relativ unregelmäßige Östrogen-Peaks. Sehr hohe Werte fielen zu Beginn der Untersuchung auf. Östrogen-Maximalwerte konnten für den 9. und 29. März sowie für den 9. und 24. April verzeichnet werden. Die Werte lagen in einem Bereich von 25 bis 150 ng/g Kot. Vaginalzytologisch wurde für diesen Zeitraum eine Östrusperiode vom 5. bis zum 14. März und eine weitere Östrusperiode vom 23. April bis zum 7. Mai ermittelt. Vom 11. bis zum 25. Juni ergab das vestibularzytologische Bild erneut Hinweise auf eine Östrusperiode. Das Hormonprofil zeigte dementsprechend einen Östrogen-Peak für den 14. Juni an. Nach einer verlängerten Interöstrusphase erschien die nächste Östrusperiode im Zeitraum vom 18. August bis 1. September im Vestibular-Abstrich. Die Östrogenwerte stiegen in diesem Zeitraum zwar leicht an, ein richtiger Östrogen-Peak lag aber nicht vor. Der nächste deutliche Peak wurde am 25. Oktober erreicht. Diesem Ergebnis entsprechend ermittelte sich zytologisch ein Östrus für die Zeit vom 20. bis 30. Oktober.

Nach dem Östrogen-Maximalwert stiegen die Progesteronwerte sprunghaft auf Mengen zwischen 130 und 530 ng/g Kot. Die Basislinie lag bei 80 ng/g Kot.



**Abb. 29: Wiedergabe der Progestagen- (Pg-diol) (blaue Kurve) und Östrogenwerte (rote Kurve) der Großen Ameisenbärin „Sandra“ im Zeitraum der Probennahme vom 01.03.2001 bis zum 31.10.2001.**

**Die Pfeile geben die vestibularzytologisch ermittelten Östrus-Zeitpunkte an.**

„Sandra“:

Fünf Östrogen-Peaks wurden in dem Zeitraum März bis Oktober 2001 festgestellt. Der erste fiel auf den 1. März. Die vestibularzytologisch ermittelte Östrusperiode fand im Zeitraum vom 16. Februar bis 12. März statt. Nach 54 Tagen erfolgte am 24. April der zweite gemessene Östrogen-Höchstwert. Vom 10. bis 30. April dauerte die Östrusperiode insgesamt. Die nächste Östrusperiode stellte sich zytologisch vom 6. bis 19. Juni dar, mit einem Östrogen-Peak am 15. Juni. Nach 70 Tagen, am 20. August, und auch am 10. Oktober, wurden die Östrogen-Peaks gemessen. Diese erschienen erst drei beziehungsweise vier Tage nach dem jeweiligen Östrus. Vestibularzytologisch ergaben sich Daten für die Zyklen vom 26. Juli bis 17. August und vom 20. September bis 6. Oktober. Die Werte für die Östrogene lagen zwischen 21 und 64 ng/g Kot.

Die Progesteronwerte stiegen jeweils nach einem Östrogen-Peak an, um zirka zwei Wochen nach dem Östrogen-Peak den Höchstwert zu erreichen. Die Abnahme erfolgte langsam bis zum nächsten Östrogen-Höchstwert. Dabei lagen die Höchstkonzentrationen bei 380 ng/g Kot und die Basislinie um 84 ng/g Kot.

Der durchschnittliche Abstand zwischen den Östrogen-Peaks ergab eine Zykluslänge für „Sandra“ von 56,2 Tagen. Diese Länge entsprach demnach den zytologisch ermittelten Ergebnissen ( $51 \pm 16$  Tage).



„Vera“

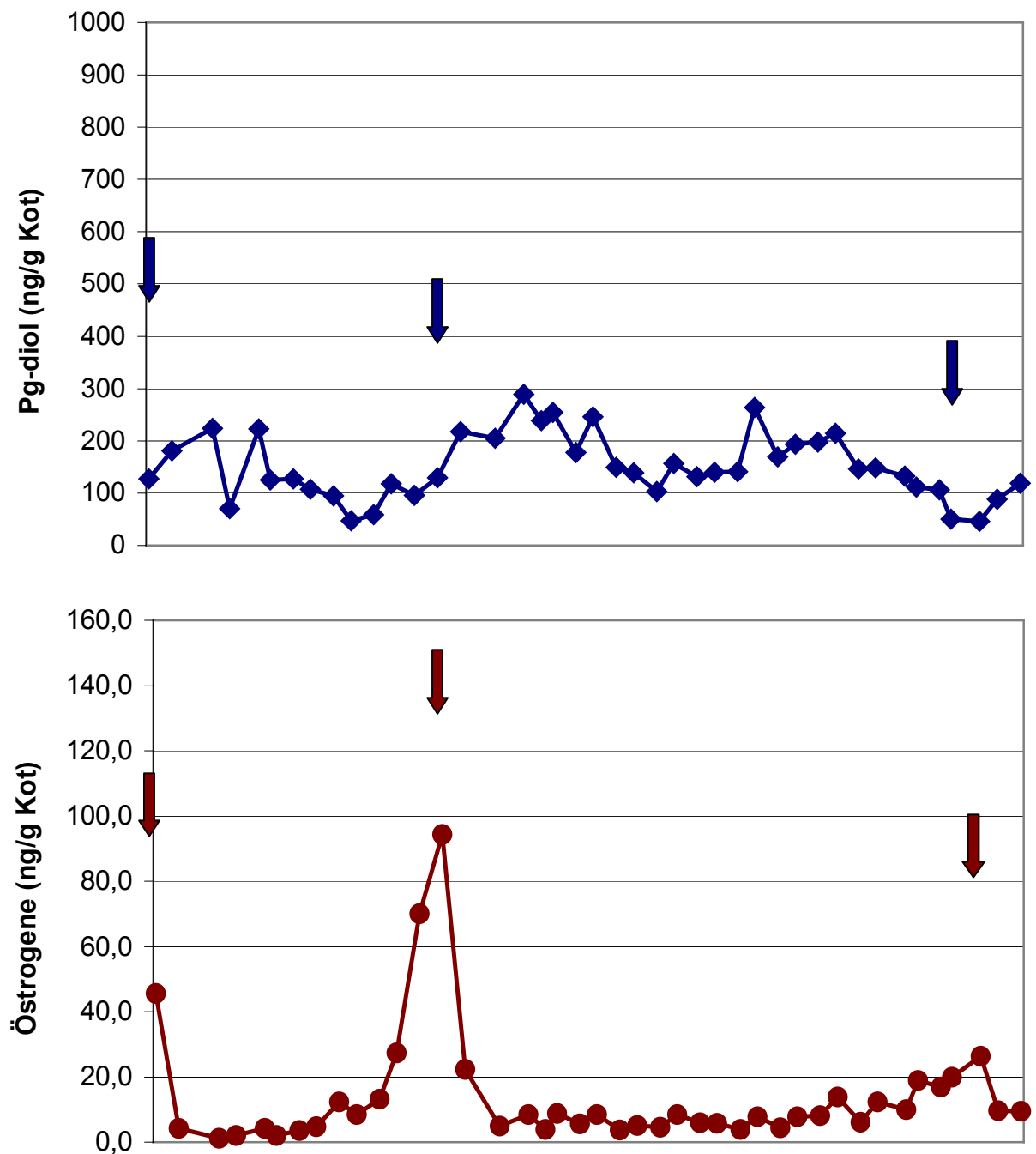


Abb. 30: Wiedergabe der Progestagen- (Pg-diol) (blaue Kurve) und Östrogenwerte (rote Kurve) der Großen Ameisenbärin „Vera“ im Zeitraum der Probenahme vom 01.03.2001 bis zum 30.07.2001.

Die Pfeile geben die vestibularzytologisch ermittelten Östrus-Zeitpunkte an.

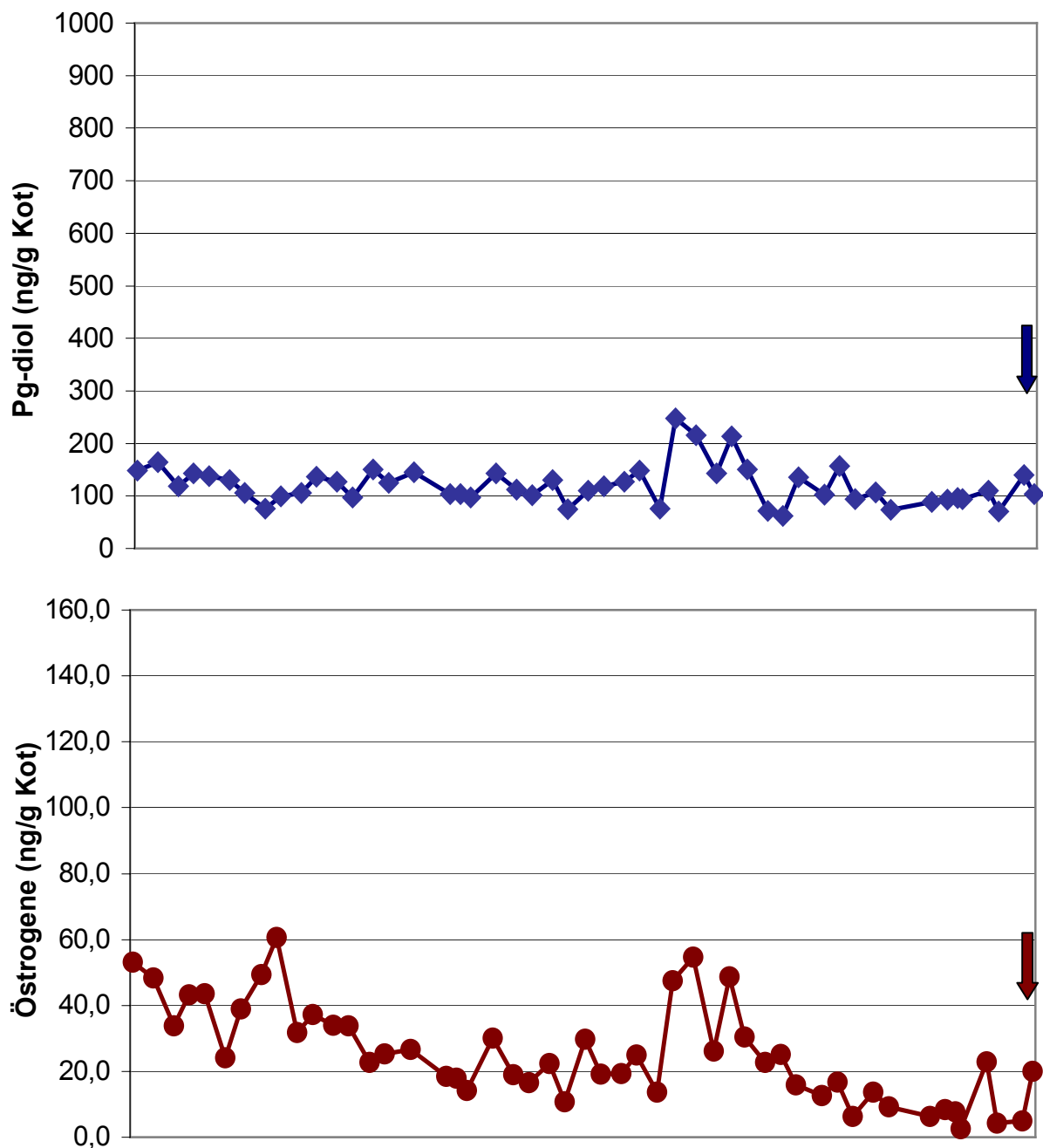
„Vera“:

Zum Untersuchungsbeginn befand sich dieses Tier in einer Östrusperiode. Seine Länge konnte zytologisch vom 18. Februar bis zum 9. März festgelegt werden. Der erste Östrogen-Peak erschien entsprechend am 1. März. Im Abstand von 50 Tagen wurde am 20. April ein weiterer Östrogen-Maximalwert gemessen. Der Zeitraum vom 9. bis 29. April gab die Länge der Östrusperiode an. Nach einer verlängerten Interöstrus-Phase, im Abstand von 94 Tagen, war der nächste Östrogen-Peak am 23. Juli messbar. Aus der Östrusphase vom 15. Juli bis zum 1. August ging eine Gravidität hervor.

Dieses Weibchen zeigte Östrogenwerte von durchschnittlich 8,3 ng/g Kot. Die maximalen Konzentrationen im Östrus erreichten im Mittel Werte von 63,3 ng/g Kot.

Die Progesteronwerte stiegen wenige Tage nach dem Östrogen-Höchstwert auf Mengen von bis zu 289 ng/g Kot, um danach wieder abzufallen. Die Basislinie lag bei 100 ng/g Kot. In der Phase des verlängerten Diöstrus waren die Progesteronwerte ähnlich hoch wie die Werte während der Gravidität. Sie nahmen kurz vor dem darauf folgenden Östrogen-Peak um die Hälfte ab.

## „Juanita“



**Abb. 31: Wiedergabe der Progestagen- (Pg-diol) (blaue Kurve) und Östrogenwerte (rote Kurve) der Großen Ameisenbärin „Juanita“ im Zeitraum der Probenahme vom 01.03.2001 bis zum 23.08.2001.**

Die Pfeile geben die vestibularzytologisch ermittelten Östrus-Zeitpunkte an.

### „Juanita“

Bei dem *juvenilen* Tier der Untersuchungsgruppe wurde der erste Östrus vestibularzytologisch für den Zeitraum vom 20. August bis zum 8. September ermittelt. Das Hormonprofil ergab Östrogen-Höchstkonzentrationen für den 14. und 23. August. Die Werte reichten von 20 bis 23 ng/g Kot. Aus diesem Zyklus ging eine Gravidität hervor.

Entgegen dem zytologischem Bild wurden zum Untersuchungsbeginn am 1. März bis Anfang Juli des gleichen Jahres sehr hohe Östrogenwerte gemessen. Anfang und Ende März, Mitte und Ende Mai wurden Östrogen-Peaks deutlich, die sich jedoch nicht durch die zytologische Untersuchung bestätigten. Die Konzentrationen der Östrogene lagen im Mittel bei 31 ng/g Kot und waren höher als bei den adulten Weibchen.

Die Progesteronwerte erreichten Maximalwerte von 247 ng/g Kot, die Basislinie lag bei 110 ng/g Kot.

Die Ergebnisse waren bei diesem Tier nicht eindeutig. Diese junge Ameisenbärin zeigte im Hormonprofil keine deutlichen Anzeichen für einen Östrus. Der Hormonstatus hatte sich bei diesem juvenilen Tier noch nicht eingependelt. Durch die vestibularzytologische Untersuchung konnte der erste Östrus ermittelt werden, aus dem eine Gravidität hervorging.

### „Argentina“

Das vaginalzytologische Bild der *ältesten* Großen Ameisenbärin der Untersuchungsgruppe zeigte während des gesamten Untersuchungszeitraum keine Veränderungen, die mit einem Zyklusgeschehen in Verbindung gebracht werden konnten. Es wurde ausschließlich das zytologische Bild des Anöstrus ermittelt.

Die Hormonanalyse für das älteste Tier der Gruppe ergab keine Hinweise auf ein Zyklusgeschehen. Das Ergebnis entsprach dem der Zytodiagnostik.

Zusammenfassend ist festzustellen, dass sich die hormonell ermittelte *Gesamt-Zykluslänge* von  $56,2 \pm 17,4$  Tagen aufteilte in die *Follikelphase*, die eine durchschnittliche Länge zwischen 7-14 Tagen hatte, gefolgt von der *Corpus-luteum-Phase*, die der Interöstrusphase entsprach und im Mittel zwischen 28 und 42 Tagen andauerte.

Analog zu diesen Ergebnissen wurden durch die zytologischen Untersuchungen vergleichbare Daten ermittelt. Der *Gesamt-Zyklus* konnte, basierend auf dieser Methode, mit einer Länge von  **$51,3 \pm 2,8$**  Tagen bestimmt werden. Sie teilte sich wie folgt in die einzelnen Phasen auf:

Die Phase des *Östrus* wies eine durchschnittlichen Dauer von  $16 \pm 5$  Tagen auf. Der sich anschließende *Interöstrus* dauerte im Mittel  $25 \pm 3$  Tage.

Die Länge des *Proöstrus* betrug im Schnitt  $11 \pm 4$  Tage.

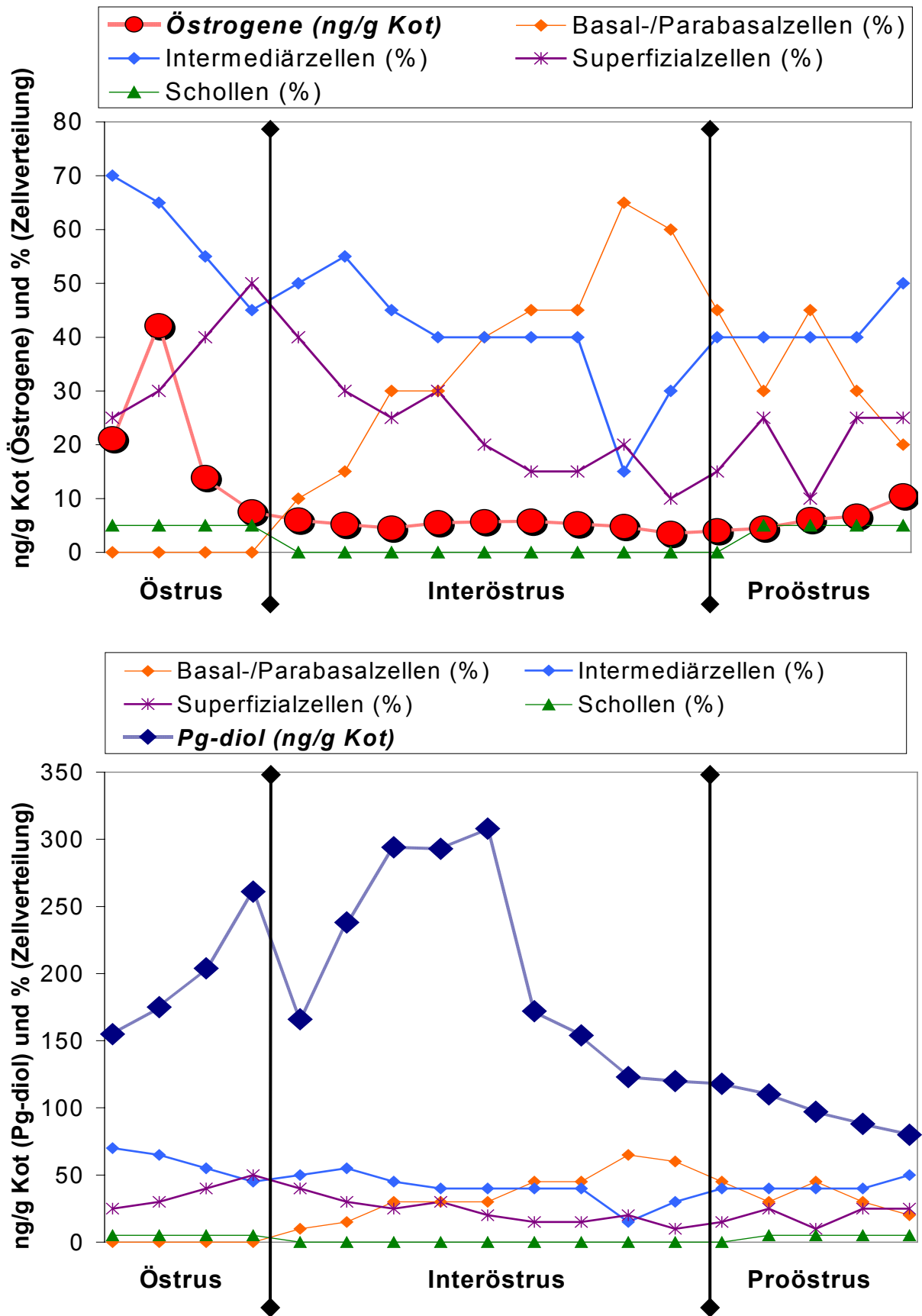


Abb. 33: Darstellung der Östrogenwerte (ng/g Kot) und der Progesteronwerte (ng/g Kot) im Zusammenhang mit den Ergebnissen der zytologischen Untersuchung (Zellverteilung in %) im Zyklusverlauf.

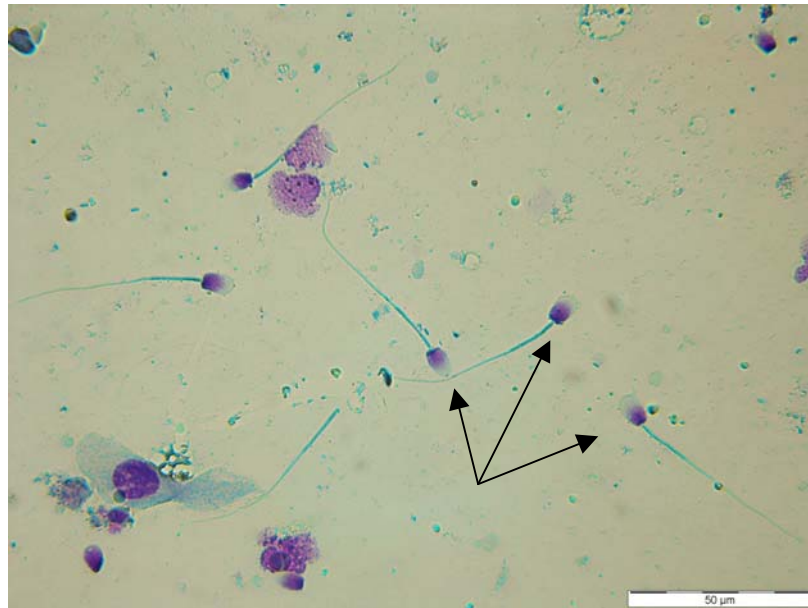
#### **4.4 Kohabitation und Gravidität, Geburt und postpartale Phase**

##### **4.4.1 Kohabitationsverhalten und Nachweis von Spermien im Abstrichmaterial**

Bei allen Tieren, die zum Untersuchungszeitpunkt mit einem männlichen Tier vergesellschaftet waren, konnten zu allen Zyklusphasen Spermien im Abstrichmaterial nachgewiesen werden. Die Spermatozyten haben eine durchschnittliche Größe von 9,4 µm. In besonders hoher Dichte wurden sie allerdings in der Phase des Östrus gefunden (Abb. 33) und dann auch kontinuierlich über mehrere Tage. Der erste Tag des Östrus, an dem Spermien in größerer Anzahl nachzuweisen waren, diente der exakten Berechnung des Geburtstermins. Im Interöstrus wurden ebenfalls Spermien in den Abstrichen gefunden, jedoch nur vereinzelt.

Außerordentlich bemerkenswert ist die Feststellung, dass Spermien auch während der Gravidität in den Abstrichen zu finden waren. Bis zur Isolierung des Weibchens zirka sechs bis acht Wochen vor der Geburt, war es möglich, in allen Stadien der Gravidität Spermien im Vaginalabstrich nachzuweisen. Dies muss als Umstand gewertet werden, dass weibliche Tiere trotz bestehender Gravidität fortlaufend gedeckt werden.

Verhaltensbeobachtungen in der Östruspase erbrachten ein vermehrtes Interesse des Männchen an dem Weibchen: Es beschnüffelt in dieser Zeit intensiv die anogenitale Region und leckt den frisch abgesetzten Urin des Weibchens vom Boden auf. Deckversuche werden in dieser Zeit gehäuft vollzogen. Ein massiver Spermienachweis im Abstrichmaterial war dann über mehrere Tage hinweg gegeben.



**Abb. 33: Spermien (schwarze Pfeile) im vestibulovaginalen Abstrichmaterial zum Zeitpunkt des Östrus einer Großen Ameisenbärin.**

#### **4.4.2 Graviditätsdiagnostik mittels Vestibularzytologie**

Im Untersuchungszeitraum wurden insgesamt sechs vollständige Graviditätsperioden von vier Probandinnen ausgewertet.

Der Beginn einer Gravidität wurde mit dem vestibularzytologischen Nachweis einer besonders dichten Spermienpopulation im Abstrich (Kohabitations- und Konzeptionszeitpunkt) festgelegt, woraus sich eine durchschnittliche Graviditätsdauer von  $181 \pm 3$  Tagen ( $n=6$ ) errechnen ließ.

In den ersten zwei Wochen der Gravidität ähnelte die Zellzusammensetzung dem Abstrichbild des frühen Interöstrus. Das Zellbild im weiteren Verlauf der Gravidität stimmte mit dem Abstrichbild im späten Interöstrus überein.

Wenn keine verlängerte Interöstrusphase auftrat, und spätestens nach 10 Wochen kein Östruszyklus einsetzte, ließ sich die Verdachtsdiagnose „Gravidität“ stellen.

Im ersten Drittel der Gravidität betrug die durchschnittliche Anzahl von Basal- und Parabasalzellen 53% und die der Intermediärzellen 37%. Der Anteil an Superfizialzellen lag bei 7% und der für die Schollen bei 2%.



Im mittleren Drittel der Gravidität verschoben sich die Prozentzahlen leicht zugunsten der Basal- und Parabasalzellen und erreichten Werte von 66%. Die Intermediärzellen sanken in diesem Zeitraum auf 23%, die Superfizialzellen auf 5% und die Schollen auf 3%.

Das letzte Drittel der Gravidität war gekennzeichnet von einer hohen Zahl an Basal- und Parabasalzellen, deren Anteil nun bei 75% lag. Die Intermediärzellen waren mit 16% vertreten. Nur geringen Anteil nahmen die Superfizialzellen mit 4% und die Schollen mit 1,0% ein. Dieses zytologische Bild änderte sich nicht bis zum Geburtstermin.

#### Vestibularzytologische und endokrine Lage kurz vor und in der Geburt:

Der Geburtseintritt ließ sich vestibularzytologisch nicht determinieren. Während der gesamten Graviditätsdauer konnten Leukozyten nur vereinzelt gefunden werden. Interessant war die Tatsache, dass im Kot präpartal ein Anstieg der Östrogene nachweisbar war, die Vestibularabstriche dagegen keine eindeutigen Hinweise in Form eines Anstiegs von Intermediär- und Superfizialzellen darauf gaben.

Der Östrogenwert stieg im letzten Drittel der Gravidität (35 bis 49 Tage) kontinuierlich bis zum Tag der Geburt an.

Der Anstieg des Progesteronwerts erfolgte über die Gesamtzeit der Gravidität zunächst kontinuierlich. Zirka vier Wochen ante partum stiegen die Werte rasant an, um am Tag der Geburt Maximalwerte zu erreichen. Unmittelbar nach der Geburt fielen sowohl die Östrogen- als auch die Progesteronkonzentrationen wieder ab.

#### **4.4.3 Eintritt des ersten Östrus post partum**

Im Überwachungszeitraum kam es zu sieben Geburten und der Eintritt des ersten Östrus post partum konnte so registriert werden. Vier der sieben Jungtiere wurden erfolgreich von ihren Müttern aufgezogen. Ein Neonat musste per Sectio caesarea entbunden und anschließend mit der Hand aufgezogen werden. Eines der Neugeborenen starb unter der Geburt, ein anderes zwei Tage post natum.

Die Jungtiere verblieben im Allgemeinen bis zum 6. Lebensmonat bei der Mutter. Zusätzlich zur Muttermilchernährung begannen sie ab dem 4. Monat die den Ameisenbären angebotene Nahrung aufzunehmen. Bei den Weibchen, die ihre Jungtiere erfolgreich aufzogen und sich in der Laktation befanden, trat der erste Östrus post partum nach durchschnittlich  $92,2 \pm 43,5$  Tagen, also noch intra lactationem, ein. Die längste Zeitspanne konnte mit 152 Tagen gemessen werden. In einem Fall war der erste Östrus nach der Geburt unter Laktationsbedingungen bereits nach 58 Tagen zu beobachten. Das bedeutet, dass Große Ameisenbären bereits in der zweiten Hälfte der Laktation, also in der Zeit der abnehmenden Milchbildung, wieder zu zyklisieren beginnen.

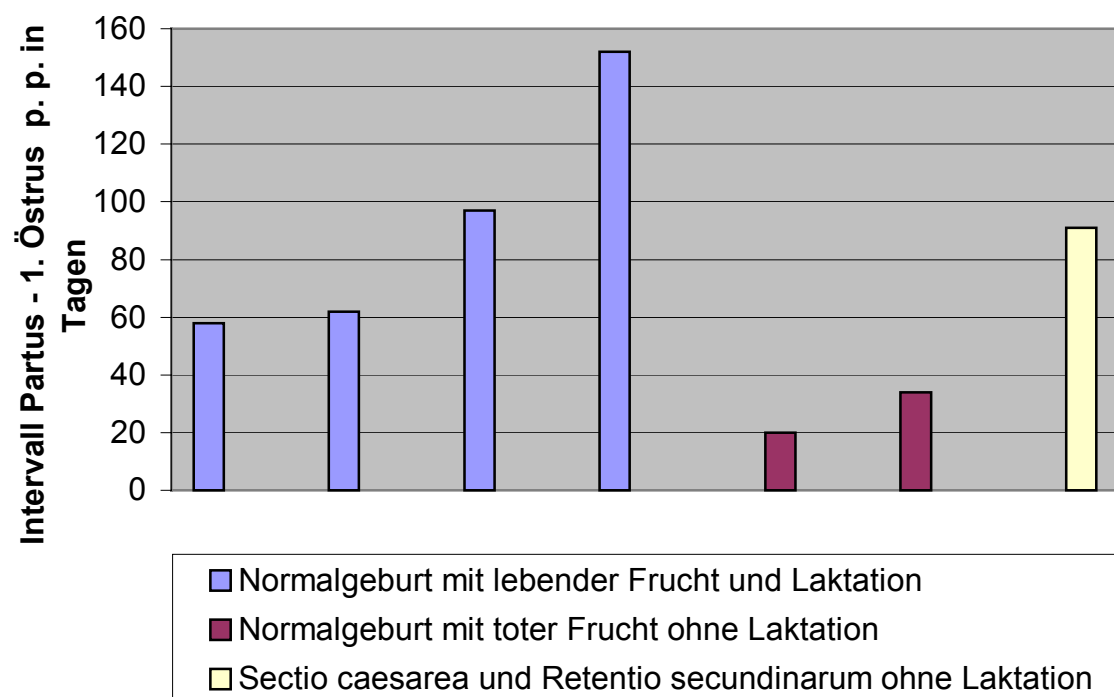
Ein Muttertier entwickelte nach einer Sectio caesarea eine Retentio secundinarum und setzte mit der Laktation total aus. Bei ihr trat der erste Östrus nach 91 Tagen ein.

Die weiblichen Großen Ameisenbären, deren Neugeborene unter oder kurz nach der Geburt verstorben waren, zeigten den ersten Östrus post partum ohne Laktationsbelastung bereits nach 20 beziehungsweise nach 34 Tagen.

Unter den gegebenen Untersuchungs- und Haltungsbedingungen, bei denen die Weibchen ständigen olfaktorischen und visuellen Kontakt zum männlichen Tier hatten, kann davon ausgegangen werden, dass durch den Einfluss von Pheromonen der Eintritt des Östrus post partum forciert wird.

**Tab. 11: Übersicht über den Eintritt des Östrus post partum beim Großen Ameisenbären in Tagen unter differenten Geburts- und Aufzuchtbedingungen.**

<b>Geburts- verlauf Kriterium</b>	<b>Normalgeburt mit lebender Frucht und Laktation</b>	<b>Sectio caesarea und Retentio secundinarum ohne Laktation</b>	<b>Normalgeburt mit toter Frucht ohne Laktation</b>
<b>Anzahl der untersuchten Zyklen</b>	4	1	2
<b>Intervall Partus- 1. Östrus p.p. in Tagen</b>	62 58 152 97	91	20 34
<b><math>\bar{x} \pm s</math></b>	<b>92,2 <math>\pm</math> 43,5</b>	<b>91,0</b>	<b>27,0 <math>\pm</math> 9,9</b>



**Abb. 34: Intervall zwischen Partus und 1. Östrus post partum in Tagen unter differenten Geburts- und Aufzuchtbedingungen.**

#### **4.4.4 Hormonanalytische Untersuchung während der Gravidität und Geburt**

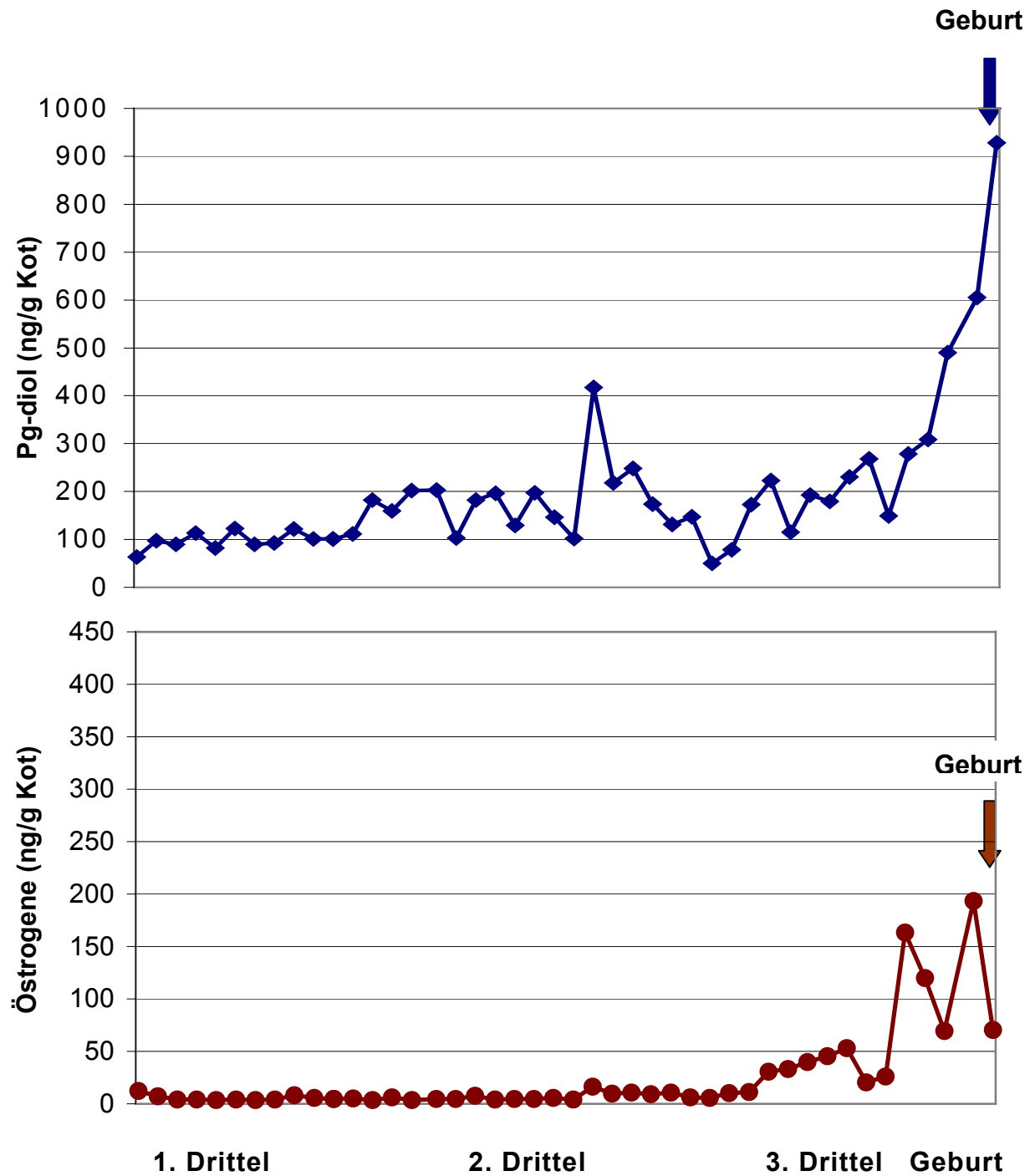
Im Untersuchungszeitraum konnten drei komplette Graviditäten in die hormonanalytische Untersuchung einbezogen werden.

Die Östrogenkonzentration während der ersten zwei Drittel der Gravidität lag bei 5,9 ng/g Kot. Im letzten Drittel (35 bis 49 Tage) nahm sie kontinuierlich bis zum Tag der Geburt zu. Die Maximalkonzentration erreichte zu diesem Zeitpunkt Werte von bis zu 413,5 ng/g Kot.

Der Gehalt an Progesteron lag im Mittel bei 123 ng/g Kot. Der Anstieg erfolgte zunächst kontinuierlich. Zirka vier Wochen ante partum stiegen die Werte rasant an, um am Tag der Geburt das Maximum zu erreichen. Die Maximalwerte schwankten vier bis zehn Tage vor der Geburt zwischen 411 und 948 ng/g Kot.

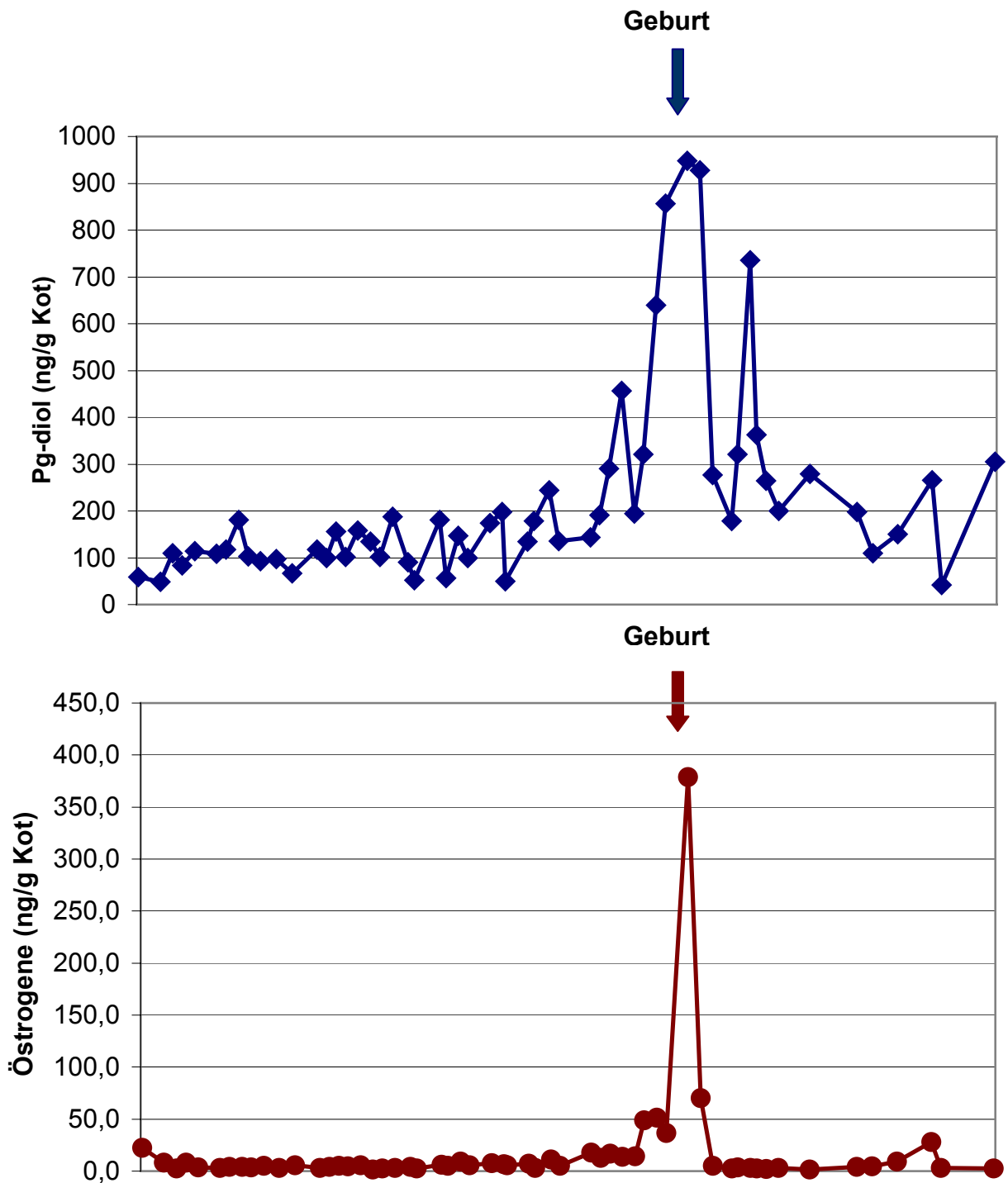
Unmittelbar nach der Geburt fielen sowohl die Östrogen- als auch die Progesteronkonzentrationen wieder ab.

Nachfolgend seien sowohl die Standardkurven (Abb. 35) für die Progestagen- und Östrogen-Mittelwerte aller zum Zeitpunkt der Untersuchung graviden Ameisenbären dargestellt als auch die Einzel-Diagramme (Abb. 36 bis 38) dieser Tiere.



**Abb. 35:** Darstellung der Östrogen- und Progestagen-Mittelwerte im Kot von Großen Ameisenbären während der Gravidität.

„Karla“



**Abb. 36:** Darstellung der Östrogen- und Progestagenwerte (Pg-diol) von der Großen Ameisenbärin „Karla“. Probenahme im Zeitraum der Gravidität vom 02.08.2001 (Kohabitation) bis zur Geburt am 28.01.2002 und während der postpartalen Periode bis zum 02.05.2002. Der Neonat wurde erfolgreich aufgezogen.

Die Pfeile geben den Geburtszeitpunkt an.

„Karla“

In der Östrusperiode vom 25.07. bis zum 03.08.2001 mit einem Östrogen-Peak am 02.08.2001 wurden vestibularzytologisch am 25.07. und am 03.08.2001 Spermien in besonders hoher Dichte festgestellt. Aus dieser Östrusperiode resultierte eine Gravidität mit der Geburt des Jungtieres am 28.01.2002.

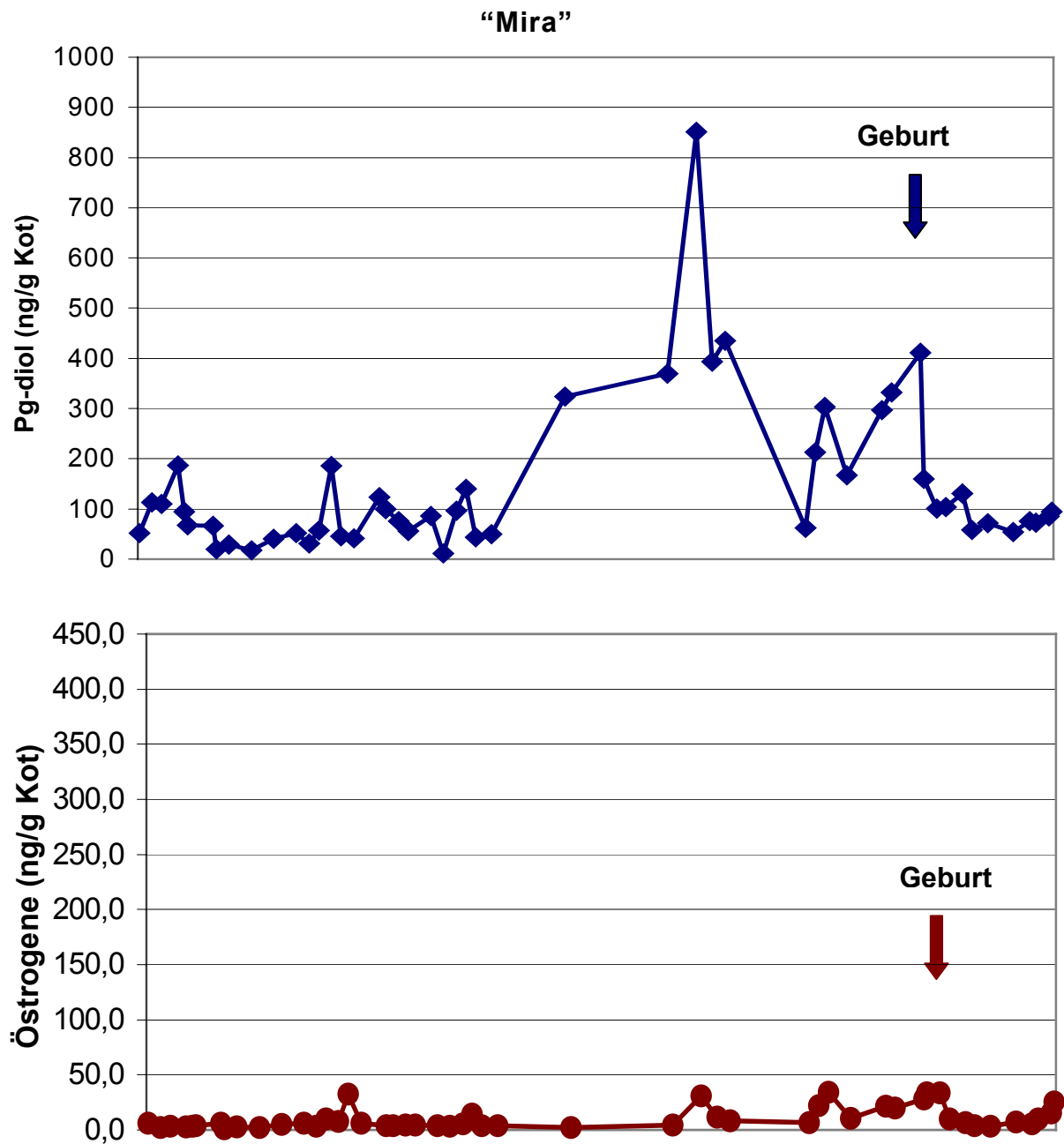
Während der Gravidität lagen die Östrogenwerte durchschnittlich bei 5,6 ng/g Kot. Die Östrogenmengen im Kot erhöhten sich ab dem 30. Dezember, also zirka vier Wochen ante partum, kontinuierlich bis zum Tag der Geburt. Ende Dezember stiegen die Östrogenwerte auf 16 ng/g Kot und erreichten Mitte Januar Werte von 52 ng/g Kot. Am 24. Januar stiegen die Werte rapide auf 380 ng/g Kot und sanken am Tag der Geburt auf 70,4 ng/g Kot. Der Östrogenwert lag zwei Tage nach der Geburt wieder bei 5 ng/g Kot.

Während der Gravidität wurden gleichbleibende Progesteronwerte von durchschnittlich ca. 123 ng/g Kot erreicht. Zwei Wochen vor der Geburt stiegen die Progesteronwerte steil an und erreichten Werte von 940 ng/g Kot. Zwei Tage post partum sanken sie wieder auf 277 ng/g Kot.

Das Hormonprofil für diese Große Ameisenbärin wurde noch bis zum 12.04.2002 erstellt. In dieser Laktationsperiode lagen die durchschnittlichen Östrogenwerte bei 3,2 ng/g Kot. Sie stiegen am 01.04.2002 auf 9,3 ng/g Kot und erreichten im ersten Östrus post partum am 12.04.2002, den Wert von 28,1 ng/g Kot.

Die Progesteronwerte lagen während der Laktation im Durchschnitt bei 280 ng/g Kot.





**Abb. 37: Darstellung der Östrogen- und Progestagenwerte (Pg-diol) der Großen Ameisenbärin „Mira“. Probennahme im Zeitraum der Gravidität vom 23.10.2001 (Kohabitation) bis zur Geburt am 29.04.2002 und während der Post Partum-Periode bis zum 04.06.2002. Die Probandin laktierte nicht, da der Neonat am 01.05.2002 verstarb.**

**Die Pfeile geben den Geburtszeitpunkt an.**

*„Mira“*

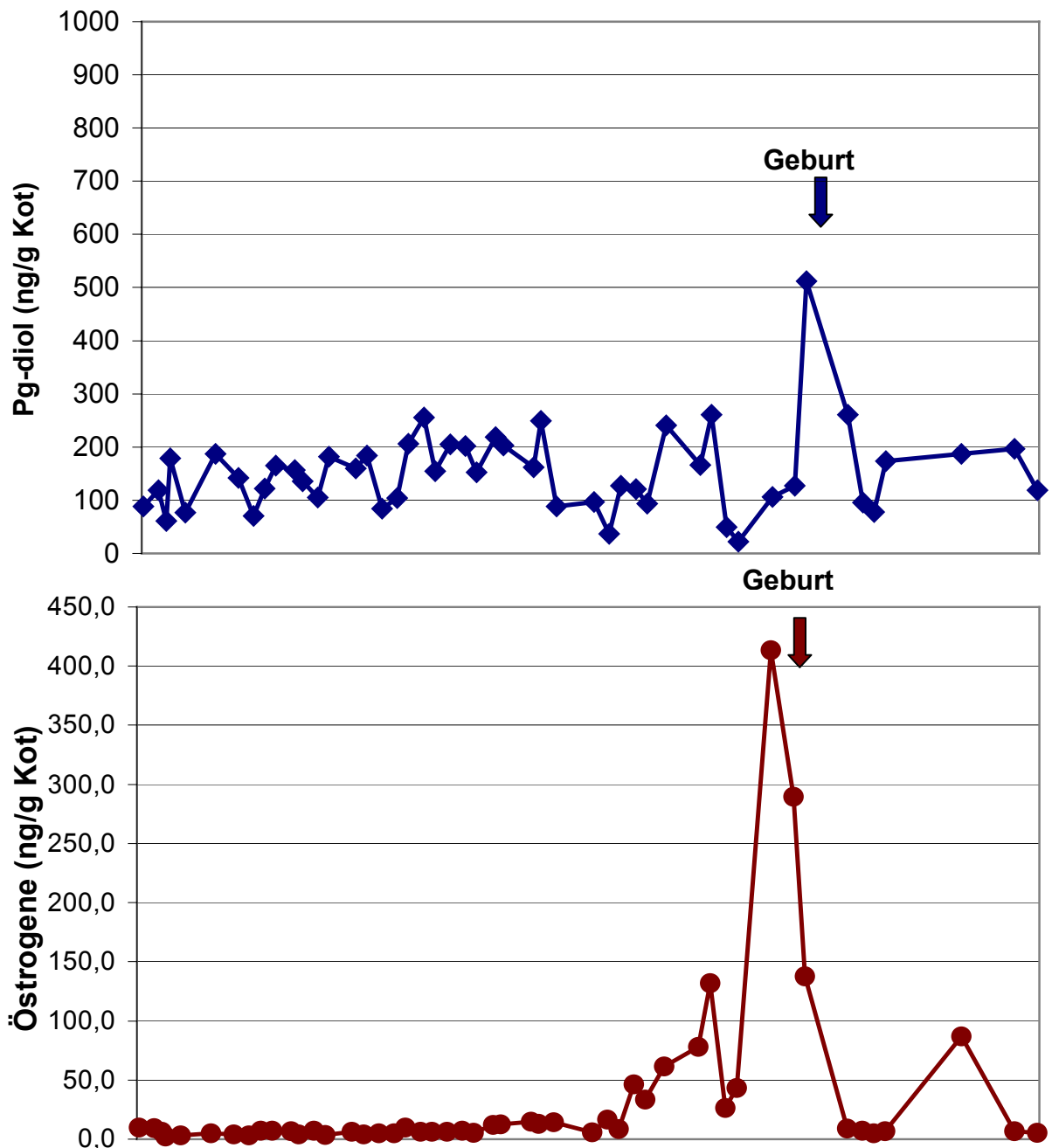
Zytologisch wurde eine Östrusperiode für die Zeit vom 20. bis 30. Oktober 2001 ermittelt, entsprechend konnte am 25. Oktober ein Östrogen-Peak festgestellt werden. Spermien in besonders hoher Dichte traten vom 29. bis 31.10. in Erscheinung, so dass von einer erfolgreichen Kohabitation auszugehen war.

Im ersten Drittel der Gravidität wurden Östrogenwerte von durchschnittlich zirka 5,3 ng/g Kot erreicht. Sie stiegen fünf Wochen vor der Geburt kontinuierlich an. Am Tag der Geburt lagen sie sechsfach höher bei 33,9 ng/g Kot. Einen Tag post partum sanken sie wieder auf 10,2 ng/g Kot ab.

Im ersten Graviditätsdrittel lagen die Progesteronwerte bei durchschnittlich 102,4 ng/g Kot. Im zweiten Graviditätsdrittel stiegen sie sprunghaft an und erreichten Werte von durchschnittlich 330 (300 bis 850) ng/g Kot. Sie sanken bereits vier Tage ante partum wieder auf 160 ng/g Kot und lagen zum Geburtstermin bei 101 ng/g Kot.

Nach einer Tragzeit von 182 Tagen kam es am 29. April 2002 zur Geburt eines Jungtieres. Zwei Tage post partum verstarb der Neonat. Die erste Östrusperiode trat vom 1. bis 11. Juni 2002 zytologisch in Erscheinung. Das Östrogen-Maximum wurde für den 4. Juni ermittelt, also 33 Tage post partum.

„Vera“



**Abb. 38:** Darstellung der Östrogen- und Progestagenwerte (Pg-diol) der Großen Ameisenbärin „Vera“. Probenahme im Zeitraum der Gravidität vom 25.07.2001 (Kohabitation) bis zur Geburt am 21.01.2002 und während der postpartalen Periode bis zum 23.03.2002. Dieses Tier laktierte nicht, da es zu einer Totgeburt kam. Die Pfeile geben den Geburtszeitpunkt an.

„Vera“

In der zytologisch ermittelten Östrusphase vom 15. Juli bis zum 1. August 2001 trat der Östrogen-Peak am 23. Juli in Erscheinung. Dem Auftreten von Spermien am 25. Juli folgte eine Gravidität.

Die Werte für das Östrogen während der ersten Hälfte der Gravidität lagen bei durchschnittlich 6,9 ng/g Kot. In der zweiten Graviditätshälfte stieg die Konzentration kontinuierlich an und lag im Mittel bei 34,5 ng/g Kot. Drei Wochen ante partum stiegen die Werte auf 413,5 ng/g Kot und sanken zum Geburtszeitpunkt rapide auf 8,7 ng/g Kot ab.

Die Werte für das Progesteron lagen während der Gravidität durchschnittlich bei 146 ng/g Kot. Zeitgleich mit den Östrogenwerten nahmen wenige Tage ante partum die Progesteron-Konzentrationen zu, dabei wurden vier Tage vor der Geburt Mengen von 512 ng/g Kot gemessen.

Nach einer Tragzeit von 180 Tagen kam es am 21.01.2002 zu einer Totgeburt.

Der erste Östrogen-Peak post partum trat nach dem vaginalzytologisch ermitteltem Östrus vom 12. bis 25. Februar in Erscheinung. Ein Östrogen-Peak war 37 Tage nach der Geburt, also am 27.02.2002 messbar.

Allerdings ist in diesem Zusammenhang zu erwähnen, dass eine größere Zeitspanne zwischen den Probenahmen lag. Eine Kotprobe wurde am 7. Februar, eine weitere am 27. Februar entnommen. Der Östrogen-Höchstwert hätte somit zwischen diesen beiden Daten liegen und in den Zeitraum der zytologisch ermittelten Östrusphase fallen können.

## 4.5 Sonographie

### 4.5.1 Anatomische Grundlagen und Durchführung

#### Transrektale Sonographie:

Die transrektale Sonographie wurde im Rahmen dieser Arbeit als einmaliges Experiment vorgenommen. Nachfolgend beschriebene Untersuchung erfolgte mit Unterstützung des Instituts für Zoo- und Wildtierforschung (IZW), Berlin.

Die Durchführung dieser Methode ist bislang nur in Vollnarkose möglich. Nach der Immobilisierung mit 2,0 ml Hellabrunner Mischung i.m. (Ketamin/Xylazin, Konzentration: je 100 mg in 1,0 ml Lösung) wurde ein weiblicher Großer Ameisenbär in Seitenlage verbracht, das Rektum mit warmem Leitungswasser gespült und anschließend der 7,5 MHz- Konvex-Schallkopf (EUP-F334, 4 0 R Fingertip) mit dem speziell entwickeltem Schallkopfadapter vorsichtig eingeführt. Der Adapter besteht aus einer der Größe des miniaturisierten Schallkopfs angepassten Metallschiene mit Holzgriff und kann für kleine bis mittelgroße Säugetiere eingesetzt werden. Er wurde zirka 15 bis 20 Zentimeter in das Rektum vorgeschoben, um alle relevanten Organe beurteilen zu können. Aufgrund ihrer Lage im knöchernen Becken ließen sich Vestibulum, Vagina, Zervix, Uterus sowie die Ovarien mittels dieser Sonographie-Methode darstellen. Die gewonnenen Messergebnisse verifizierten die zuvor im Rahmen pathologisch-anatomischer Untersuchungen ermittelten anatomischen Basis-Kenntnisse.

Einen Longitudinalschnitt vom kaudalen Vestibulum, dem kaudalen Abschnitt der Vagina und der Abzweigung der Urethra bis kurz vor dem Beckenkamm weisen die Abbildungen 39a und b aus. D1 gibt dabei den Durchmesser des Vestibulums an, der 11,7 Millimeter beträgt. Mit 8,4 Millimetern wird durch D2 der Durchmesser der Urethra angezeigt und D3 beschreibt mit 11,5 Millimetern den Durchmesser der Vagina. Der Schallkopf befindet sich zirka 15 cm im Rektum.

In den Abbildungen 41 bis 43 werden Fötus, Plazenta und Uterus als transrektales Sonographiebild dargestellt. Das Tier befindet sich zum Zeitpunkt der Untersuchung in der 8. bis 9. Graviditätswoche.

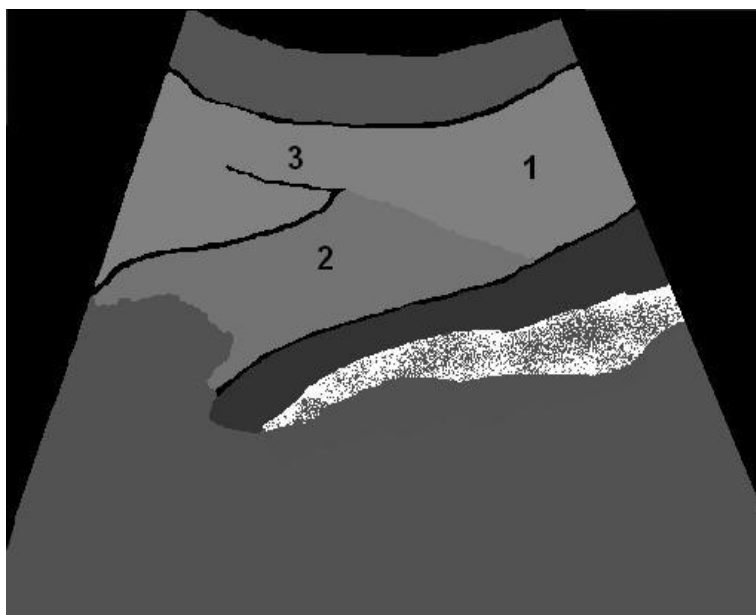


Abb. 39a

VE: Vestibulum vaginae      D1= 11,7 mm

VA: Vagina      D3= 11,6 mm

UR: Urethra      D2= 8,4 mm



1: Vestibulum vaginae

2: Urethra

3: Vagina

Abb 39b

Abb. 39a und b: Ultrasonographische Darstellung von Vestibulum, Vagina und Urethra eines Großen Ameisenbären.

### Transabdominale Sonographie

Diese Untersuchungsmethode konnte im Gegensatz zur transrektalen Sonographie routinemässig ohne Immobilisierung bei allen sechs weiblichen Großen Ameisenbären durchgeführt werden. Voraussetzung war die Regelmäßigkeit der Untersuchungen ein- bis zweimal wöchentlich, um eine Konditionierung der Tiere zu erzielen. So gewöhnten sich bei besonnener Vorgehensweise auch scheue Ameisenbären an die Manipulationen.

Zwei Tiere waren während des Untersuchungszeitraums ingravid. Bei ihnen beschränkte sich die sonographische Untersuchung auf wenige Kontrollaufnahmen, da es nicht möglich war, den ingraviden Uterus mit dieser Methode darzustellen.

Vier Ameisenbären ließen sich während der Gravidität ein bis zweimal wöchentlich transabdominal sonographieren, so dass bei einem Tier insgesamt bis zu 50 Untersuchungen pro Gravidität durchgeführt wurden.

Nach Rasur der borstigen Haare in der Flanke, beziehungsweise des ventralen Abdomens, war in der ersten Hälfte der Gravidität ein 3,0 MHz-Schallkopf für die Untersuchung anzuwenden. Die anatomische Besonderheit bei dieser Tierart ist, dass ein nur zirka 6 Zentimeter Abstand in der Flanke zwischen der letzten Rippe und dem Hüfthöcker besteht, der wenig Platz für das Untersuchungssegment bietet. Mit leichtem Druck nach kaudodorsal wurde der Schallkopf am stehenden Tier in die Flanke gedrückt.

In der zweiten Graviditätshälfte sowie verstärkt im letzten Drittel kam eine 6,5 MHz-Mikrokonvex-Sonde für die Untersuchungen zum Einsatz. Diese wurde am stehenden Tier kaudal des Nabels, mit leichtem Druck entlang des ventralen Abdomens geführt. Der spätgravide Uterus war von hier aus optimal zu erreichen. Die Bauchdecke ist allerdings bei den Großen Ameisenbären mit 1,6 bis 2,0 cm sehr dick und besitzt eine derbe Struktur. Dadurch erschwerte sich die Darstellung des Uterus, da die Eindringtiefe des 6,5 MHz Schallkopfes (in Weichgewebe) zirka 120 bis 150 mm beträgt.



**Abb. 40: Durchführung der transabdominalen Sonographie am stehenden, nicht sedierten Großen Ameisenbären.**

#### **4.5.2 Graviditätsdiagnostik und Verlaufsuntersuchung**

##### Transrektale Sonographie

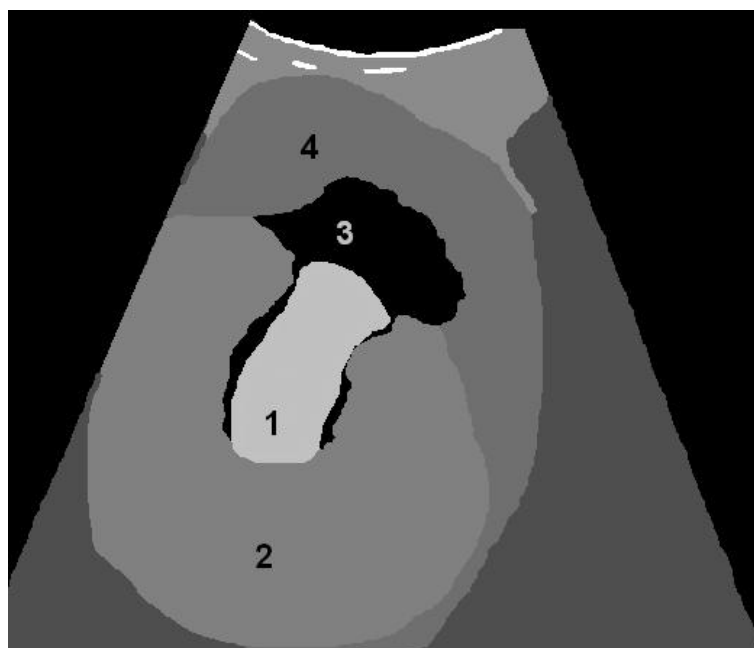
Im vorliegenden Beispiel der transrektalen Sonographie wurde eine Frühgravidität diagnostiziert. Gemäß der vestibulo-vaginalen Abstrichmethode bestand die Gravidität seit zirka 8 bis 9 Wochen. Zum Zeitpunkt des letzten diagnostizierten Östrus erfolgte bei diesem Tier der Nachweis von Spermien in besonders hoher Dichte im Vestibular-Abstrich. Somit war es möglich, das Graviditätsstadium festzulegen.

In den Abbildungen 41a bis 43b werden die Befunde der transrektalen Sonographie dargestellt. Die Scheitel-Steiß-Länge des Fötus beträgt zwischen acht und neun Graviditätswochen 19 Millimeter. Die Plazenta discoidalis umgibt ihn hufeisenförmig und ragt in das Uteruslumen hinein. Auch die Nabelschnur und das fetale Herz können mit dem 7,5 MHz-Schallkopf deutlich dargestellt werden. Die Frucht liegt eingebettet in der hufeisenförmigen Plazenta und ist von Fruchtwasser umgeben. Zirkulär ist die Uteruswand differenzierbar.





Abb. 41a



- 1.: Fötus
- 2.: Plazenta
- 3.: Fruchtwasser
- 4.: Uteruswand

Abb. 41b

Abb. 41a und b (7,5 MHz): Darstellung eines Fötus des Großen Ameisenbären „Vera“ mittels transrektaler Sonographie. Das Muttertier ist in der 8. Woche gravid.



Abb. 42a



- 1.: Fötus
- 2.: Nabelschnur
- 3.: Plazenta
- 4.: Uteruswand
- 5.: Fruchtwasser

Abb. 42b

Abb. 42a und b (7,5 MHz): Darstellung eines Fötus des Großen Ameisenbären „Vera“ mittels transrektaler Sonographie. Das Muttertier ist in der 8. Woche gravid.

Im flüssigkeitsgefüllten Uterus sind der Fötus sowie die Nabelschnur dargestellt. Die Plazenta ragt ins Uteruslumen hinein.



Abb. 43a



- 1.: Fötus
- 2.: Plazenta
- 3.: Uteruswand
- 4.: Fruchtwasser

Abb. 43b

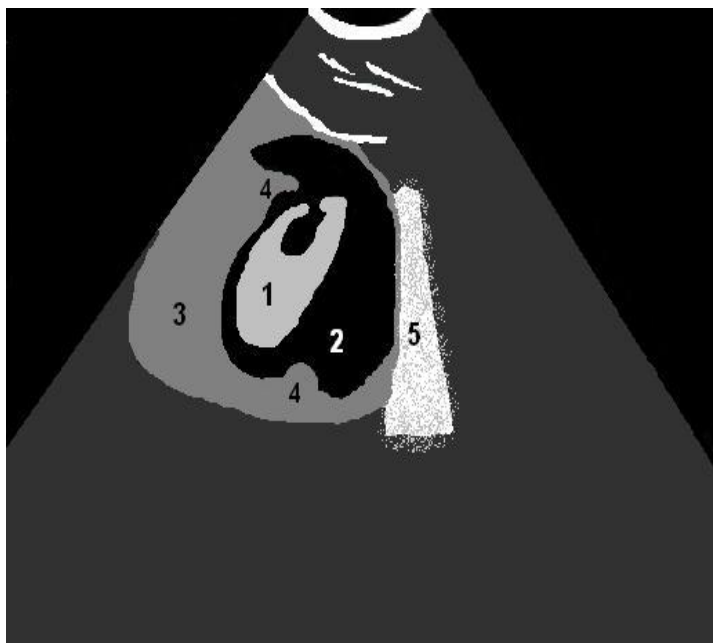
Abb. 43a und b (7,5 MHz): Ausmessung eines Fötus des Großen Ameisenbären „Vera“ in der 8. Graviditätswoche mittels transrektaler Sonographie.

Die Länge der Frucht beträgt in der 8. Graviditätswoche 20,0 Millimeter (D1= 20,0 mm).

Folgende Abbildungen (44 und 45) zeigen eine Gravidität, die bereits in der 9. Graviditätswoche mittels transabdominaler Sonographie diagnostiziert wurde. Der Fötus ist im linken oberen Bildausschnitt der Abbildung 44 erkennbar.



Abb. 44a



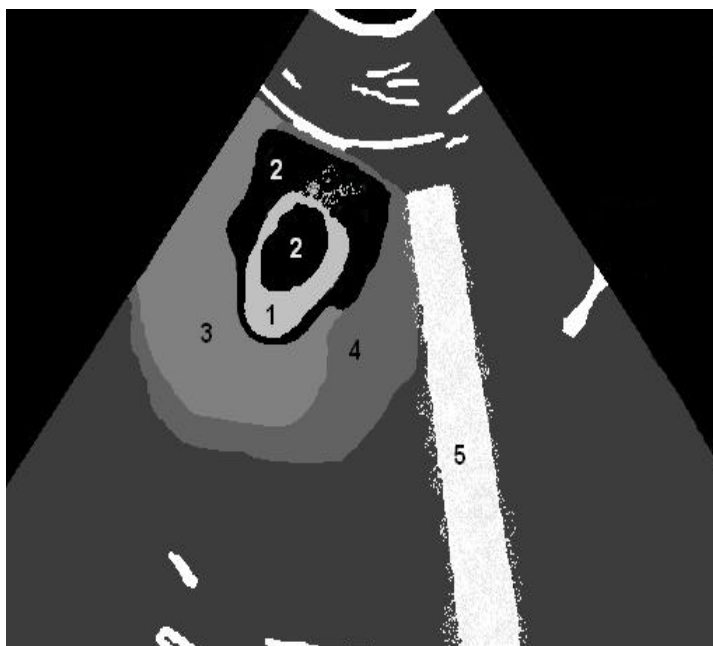
- 1.: Fötus
- 2.: Fruchtwasser
- 3.: Uteruswand
- 4.: Plazenta
- 5.: Artefakt/ Schallschatten (Darmgase)

Abb. 44b

Abb. 44a und b (3,0 MHz): Sonographische Aufnahme einer Frühgravidität (9. Graviditätswoche) beim Großen Ameisenbären nach transabdominaler Ableitung.



Abb. 45a



- 1.: Fötus
- 2.: Fruchtwasser
- 3.: Plazenta
- 4.: Uteruswand
- 5.: Artefakt/ Schallschatten (Darmgase)

Abb. 45b

Abb. 45a und b (3,0 MHz): Sonographische Aufnahme einer Frühgravidität (9. Graviditätswoche) beim Großen Ameisenbären nach transabdominaler Ableitung.

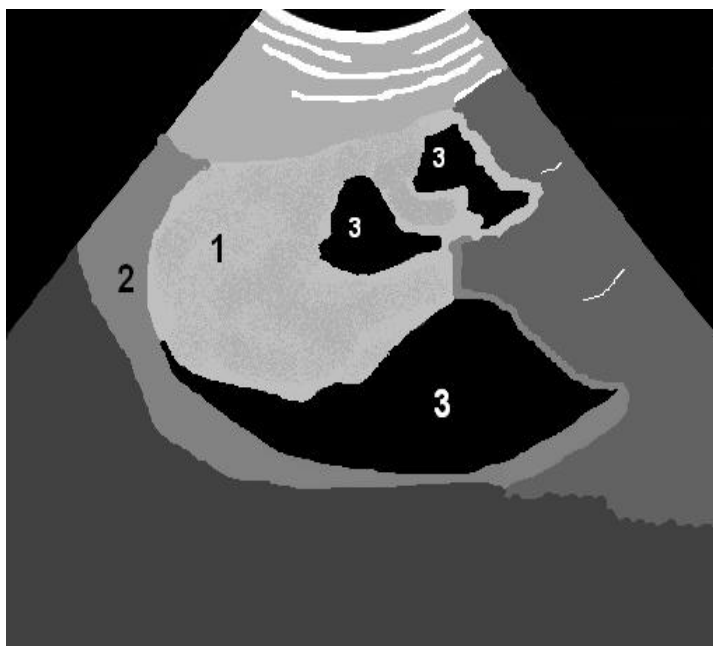
Jeweils im linken oberen Bildrand der Abbildungen 46 und 47 stellt sich der flüssigkeitsgefüllte Uterus dar. Plazenta und Fötus sind im Uteruslumen zu erkennen.

Auch Graviditäten ab der 12. bis 13. Woche ließen sich mittels transabdominaler Sonographie diagnostizieren. Die Größe der Frucht betrug dann zirka 55 bis 60 Zentimeter. Orientierungshilfen waren der kranial der Harnblase liegende flüssigkeitsgefüllte Uterus, die gut sichtbare Plazenta sowie der darin eingebettete Fötus.

Die Größe und die Vitalität der Frucht (Fruchtbewegungen) inklusive Herztätigkeit konnten erfasst werden. Das Herz war eine rundliche, echofreie Struktur mit echoreichen Septen, welche die Kammerwände und die Klappen darstellten. Es erfolgte die Zuordnung und Messung der Fruchtteile sowie die Bestimmung von Lage und Stellung der Plazenta. Durch regelmäßige Kontrollen im Verlauf der Gravidität wurde weiterhin die Vitalität des Fötus sowie die fortschreitende Plazentation überwacht.



Abb. 46a



- 1.: Fötus
- 2.: Uteruswand
- 3.: Fruchtwasser

Abb. 46b

Abb 46a und b (6,5 MHz): Darstellung eines Fötus des Großen Ameisenbären im Alter von 13 Wochen mittels transabdominaler Sonographie.

Im Uteruslumen sind Fruchtwasser (echoarm), Plazenta und der Fötus zu erkennen.





Abb. 47a



- 1.: Plazenta
- 2.: Blutgefäße  
im Anschnitt

Abb. 47b

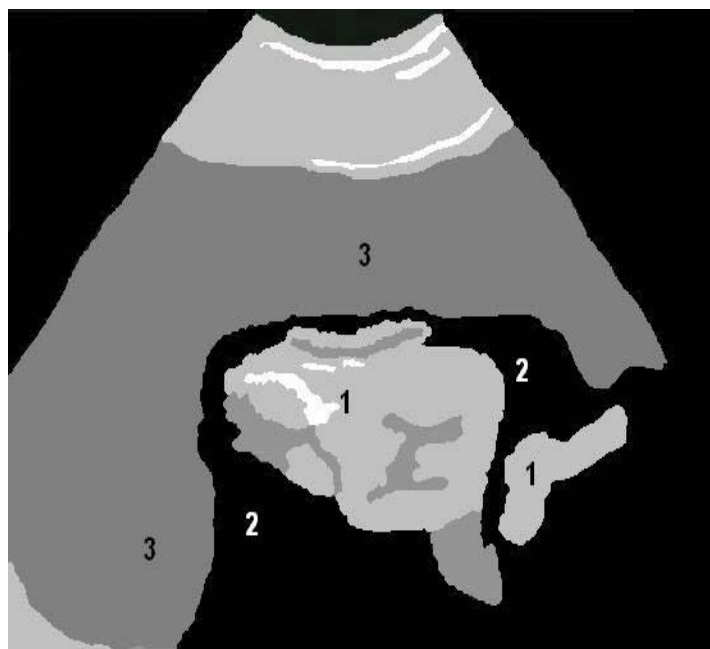
**Abb. 47a und b (6,5 MHz): Darstellung der Plazenta eines Großen Ameisenbären mittels transabdominaler Sonographie. Das Graviditätsalter beträgt zum Untersuchungszeitpunkt ca. 140 Tage.**

Die echoreiche Plazenta discoidalis mit ihrer gleichmäßig dichten Struktur ist in den Abbildungen 47a und 47b deutlich sichtbar. Im Zentrum der Plazenta stellen sich Blutgefäßanschnitte dar, die eine echoarme Struktur aufweisen.





Abb. 48a



- 1.: Fötus
- 2.: Fruchtwasser
- 3.: Plazenta

Abb. 48b

Abb. 48a und b (6,5 MHz): Sonographische Darstellung von Plazenta und Fötus eines Großen Ameisenbären mittels transabdominaler Ableitung. Der Fötus ist von Fruchtwasser umgeben. Das Graviditätsalter liegt bei ca. 120 Tagen.

Folgende ultrasonographische Darstellungen verdeutlichen die Vermessung der Körperteile des Fötus.

Abbildung 49 zeigt die homogene Struktur der Plazenta und das echoarme Uteruslumen. Der Uterus ist flüssigkeitsgefüllt, das Fruchtwasser umgibt den Fötus. Die zunehmende Mineralisierung des Skeletts wird deutlich durch die echoreicheren Strukturen des Fötus.

Der Durchmesser der Gliedmaße, dargestellt in Abbildung 50, beträgt 36 Millimeter. In Abbildung 51 erfolgt die Vermessung des Kopfes. Der Querschnitt beträgt 4,1 mal 2,1 Zentimeter.



Abb. 49a



- 1.: Gliedmasse des Fötus
- 2.: Fötus
- 3.: Uteruswand
- 4.: Fruchtwasser

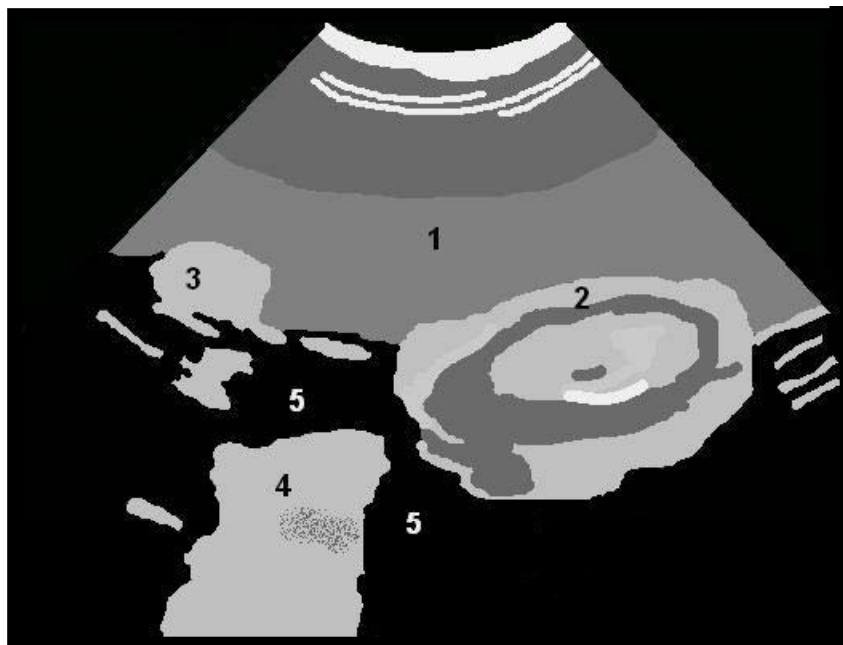
Abb. 49b

Abb. 49a und b (6,5 MHz): Sonographische Vermessung der Gliedmaße eines Fötus des Großen Ameisenbären mittels transabdominaler Ableitung. Das Alter beträgt zum Untersuchungszeitpunkt ca. 150 Tage. Als Länge können  $D1 = 36,0$  mm ermittelt werden.

Durch die zunehmende Mineralisierung des Skeletts erschien die Struktur der Knochen echoreicher und es kam zur Bildung von Schallschatten.



Abb. 50a



- 1.: Plazenta
- 2.: Kopf des Fötus
- 3.: Gliedmaße
- 4.: Körper des Fötus
- 5.: Fruchtwasser

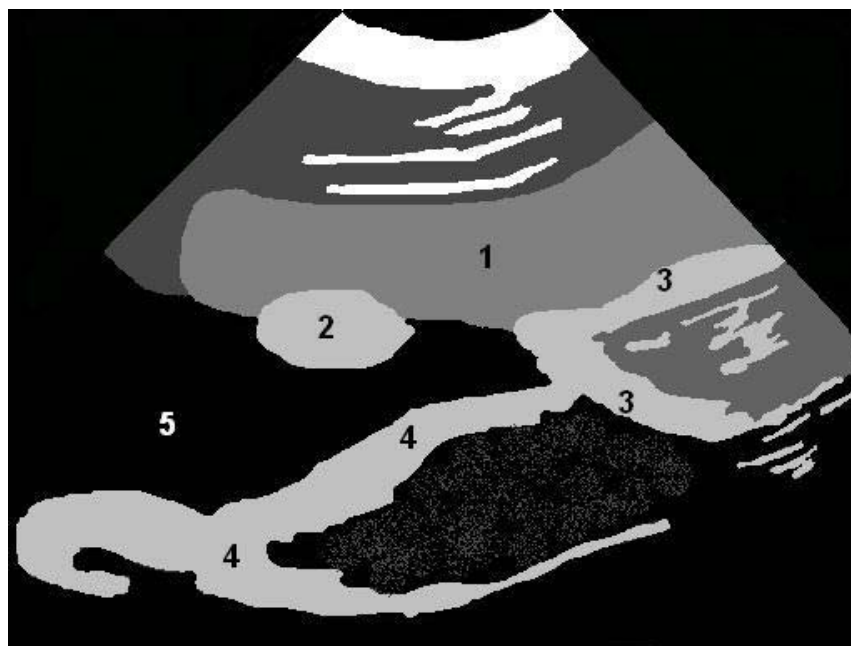
Abb. 50b

Abb. 50a und b (6,5 MHz): Sonographische Vermessung des fetalen Schädels eines Großen Ameisenbären im Querschnitt mittels transabdominaler Ableitung. Der Untersuchungszeitpunkt liegt wenige Tage ante partum.

Als Länge des Kopfes können  $D1 = 41,0$  mm ermittelt werden. Seine Höhe liegt bei  $D2 = 24,0$  mm.



Abb. 51a



- 1.: Plazenta
- 2.: Gliedmaße,
- 3.: Kopf,
- 4.: Rumpf  
des Fötus
- 5.: Fruchtwasser

Abb. 51b

Abb. 51a und b (6,5 MHz): Sonographische Darstellung der Plazenta sowie fetaler Kopf, Rumpf und Teile der Gliedmassen eines Großen Ameisenbären mittels transabdominaler Ableitung.

Der Untersuchungszeitpunkt liegt wenige Tage ante partum.

Die Größenvergleiche, die Gewichte und die Ausmessungen der Neonaten unterstützten die mittels Ultraschall-Untersuchungen ermittelten Daten. Die Abbildungen 52 und 53 zeigen zwei tote, voll entwickelte, neugeborene Ameisenbären. Die Sektionen dieser Tiere lieferten wichtige Ergebnisse zur Gewichts- und Größenentwicklung zum Zeitpunkt der Geburt.



**Abb. 52: Weiblicher Neonat (Totgeburt) eines Großen Ameisenbären. Das Geburtsgewicht beträgt 1950 Gramm, die Scheitel-Steiß-Länge 27 cm.**



**Abb. 53: Männlicher Neonat (Totgeburt) eines Großen Ameisenbären. Das Geburtsgewicht beträgt 2000 Gramm, die Scheitel-Steiß-Länge 28,5 cm.**

Abbildung 52 zeigt einen weiblichen Neonat, tot geboren am 186. Tag der Gravidität. Intensivere Untersuchungen zu diesem Individuum liefern folgende Ergebnisse:

Das Gewicht beträgt bei der Geburt 1950 Gramm. Das Neugeborene weist eine Scheitel-Steiß-Länge von 27 cm auf. Auf die Länge des Kopfes fallen 15 cm, auf den Schwanz (gemessen vom Ansatz bis zur Spitze) 26 cm. Insgesamt ergibt sich die Gesamtlänge von 68 cm. In Höhe des Bauchnabels kann bei dem Jungtier ein Bauchumfang von 26 cm gemessen werden. Die gleichen Ausmaße weist der Umfang des Thorax am Ende des Sternums auf. Der Umfang des Oberarms beträgt 14 Zentimeter, der des Unterarms 13,5 cm. Der Kopfumfang, gemessen zwischen Auge und Ohr beträgt bei diesem Tier 16 cm.

An dem Jungtier der Abbildung 53 wurden keine weiterführenden Untersuchungen durchgeführt. Es starb an Mekoniumaspiration intra partum.



## 5.0 Diskussion

Die Zyklus- und Graviditätsdiagnostik beim Großen Ameisenbär beschränkte sich bisher nur auf klinische Beobachtungen und eine einmalig durchgeführte koprologische Hormonanalyse (PATZL et al., 1998). In der vorliegenden Arbeit kam die Methode der Vestibularzytologie in Kombination mit der Hormonbestimmung aus dem Kot und der Sonographie für die Zyklus- und Graviditätsdiagnostik zur Anwendung. Ethologische Beobachtungen ergänzten das Bild.

Voraussetzung für den gesamten Untersuchungsumfang war eine detaillierte Kenntnis über die **Morphologie des Reproduktionstrakts**. Sie diente als Grundlage für das Verständnis des Ablaufs der Reproduktionsvorgänge und wurde durch Sektionen von Grossen Ameisenbären im Zoo Dortmund erarbeitet. Die anatomisch-morphologischen Beobachtungen konnten durch die erstmalig routinemäßig durchgeführten sonographischen Untersuchungen in vivo bestätigt werden.

Die durchschnittliche Länge des Vestibulums beim Großen Ameisenbären wird in der vorliegenden Arbeit aufgrund der Sektionsbefunde und sonographischen Untersuchungen auf einen Ausdehnungsgrad von 10,5 cm festgelegt.

In den Untersuchungen von POUCHET (1874) findet das Vestibulum keine Erwähnung. GRASSÉ (1955) spricht dagegen von einem „Sinus urogenitalis“, der durch eine Schleimhautfalte von der Vagina getrennt ist. Dieser von ihm so bezeichnete "Sinus urogenitalis" kann dem Vestibulum gleichgesetzt werden. Übereinstimmend mit GRASSÉ wird in den eigenen Untersuchungen die extreme Länge des Vestibulums beim Großen Ameisenbären bestätigt.

Darüber hinaus wird in der vorliegenden Arbeit postuliert, dass aufgrund der geschilderten anatomischen Gegebenheiten die Abstriche nur aus dem Vestibulum, beziehungsweise am Übergang Vestibulum-Vagina - entlang des dorsalen Vestibulardaches - entnommen werden können ("Vestibulo-vaginale Abstrichtechnik").



Laut LEISER und Mitarbeitern (1990) soll allerdings der histologische Aufbau des Vestibulums nicht ganz mit dem der Vagina übereinstimmen.

Bedingt durch das sehr lange Vestibulum beim Großen Ameisenbären fließt der Urin bei der Miktion über eine große Strecke durch das Vestibulum. Die Zellen der harnableitenden Wege können nach Ansicht der vorgenannten Autoren das Zellbild verfälschen, was sich in den eigenen Untersuchungen jedoch nicht verifizieren ließ: Hier liessen sich zu keinem Zeitpunkt der Entnahme eine Kontamination der Abstrichtupfer durch Fremdzellen beobachten. Die Ursache für die diskrepanten Resultate könnten darin liegen, dass LEISER und Mitarbeiter am Totmaterial arbeiteten und daher eine Kontamination die Folge war. Währenddessen wurde in der vorliegenden Studie stets darauf geachtet, dass die Abstrichnahme im dorsalen Bereich kranial der Urethralöffnung erfolgte, um gerade diese Verfälschungsmöglichkeit zu umgehen.

Als neue Erkenntnis dieser Arbeit kann weiterhin gelten, dass die Hymenalringstruktur genauer definiert werden konnte. Eine Schleimhautfalte trennt das Vestibulum von der Vagina. Am Sektionsmaterial erfolgte mit einer Metallsonde die Überprüfung der Durchgängigkeit dieser hymenähnlichen Anlage. Die zentral gelegene Vaginalöffnung hat einen Durchmesser von zirka 1,5 cm beim ingraviden Tier. Intra partum ist die Öffnung für eine Hand passierbar und sehr dehnbar. Die Struktur des Hymens findet keine Erwähnung in den Arbeiten von POUCHET (1874) oder GRASSÉ (1955).

Die Länge der Vagina gibt POUCHET (1874) mit fünf, die des Uterus simplex mit neun Zentimetern an. Die Längenangaben von POUCHET (1874) entsprechen nicht ganz denen der eigenen Ergebnisse: Die Sektionen der Tiere im Zoo Dortmund ergaben Messungen zwischen neun und elf Zentimetern für die Vagina und für den Uterus simplex drei mal vier Zentimeter beziehungsweise vier mal fünf Zentimeter. Dabei handelte es sich um adulte Tiere.

Die Feststellung von GRASSÉ (1955), dass Vagina und Uterus praktisch unauffällig ineinander übergehen und eine Zervix nicht deutlich ausgeprägt ist, bestätigte sich in den eigenen Untersuchungen. Dies konnte durch die

Fotodokumentation der Organabschnitte post mortem und die Aufzeichnungen der transrektalen Sonographie eindeutig belegt werden. Die „Zervix“ stellte sich demnach lediglich als undeutlich ausgeprägter ‚Schleimhautwulst‘ von zirka 3,5 cm dar.

Der Hauptteil der reproduktionsphysiologischen Studie am Großen Ameisenbären beinhaltete die Frage, ob diese Tierart das zyklisch ovarielle Geschehen im gleichen Maß durch einen synchronen Auf- und Abbau der vestibulären Schleimhaut widerspiegelt, wie es bei den Caniden und bedingt auch bei den Feliden der Fall ist. Die Idee dazu wurde in mehreren fachbezogenen Diskussionen entwickelt, wobei an dieser Stelle der Name BARTMANN ausdrücklich zu nennen ist.

Die **Veränderungen von Vulva und Vestibular-Schleimhaut im Zyklusverlauf** werden für den Großen Ameisenbär dieser Arbeit erstmalig beschrieben und lassen sich wie folgt zusammenfassen:

Im Verlauf des Östrus nimmt die Schwellung der Vulva deutlich zu und die Farbe der Schleimhaut ändert sich über die Nuancen ‚blassrosa‘, ‚rosarot‘ zu ‚gerötet‘. Durch diese Feststellungen ist es möglich, erste Schlüsse über den aktuellen Zyklusstand zu ziehen. Mittels der vestibulo-vaginalen Abstrichtechnik konnte die jeweilige Zyklusphase ermittelt werden.

Die **Blutung aus der Rima vulvae** fand bisher beim Großen Ameisenbär noch keine Zuordnung zu einer Zyklusphase. Unbekannt war zudem, welchen Ursprung die Blutung hat. Einige Autoren gaben lediglich an, dass die Ausprägung unterschiedlich stark sein kann und die Dauer variiert (POGLAYEN-NEUWALL, 1990; HATT, 1998; SCHRATTER, 2001; BARTMANN, *mündliche Mitteilung*, 1998).

Herausgestellt sei die neue, durch die vorliegende Arbeit untermauerte Erkenntnis, dass die Blutung eindeutig der Phase des Proöstrus zuzuordnen ist. Sie stammt aus dem Uterusepithel. Diese proöstrische Aufbaublutung reicht bis in den Östrus hinein und teilweise sogar darüber hinaus. Caniden haben ebenfalls eine mit blutiger Sekretion einhergehende Proöstrusphase,

jedoch ist bei ihnen in nur rund 20% der Fälle eine Fortsetzung der blutigerösen Phase in den Östrus gegeben (RIECK et al., 1955; TAMMER et al., 1994, BOSTEDT, *mündliche Mitteilung*, 2004) während beim Großen Ameisenbär von den untersuchten Fällen immerhin 35% dieses Phänomen zeigten.

Bei der Beurteilung des Sekrets muss differenziert werden zwischen dem rötlich gefärbten Hautsekret der Großen Ameisenbären, und dem blutigen Ausfluss zum Zeitpunkt des Proöstrus. Dies geschieht über den typischen leicht ranzigen Geruch des Hautsekrets sowie dessen charakteristische orange- bis rostrote Farbe. Die Funktion des bei beiden Geschlechtern vor allem in der Anogenitalregion abgesonderten Drüsensekrets ist bislang noch unerforscht.

Weißliches, zäh-schleimiges Sekret aus der Rima vulvae ist in der Phase des Östrus zu beobachten. Besonders in der mittleren Östrusphase tritt es in Erscheinung. Diese Feststellung findet sich ebenfalls noch nicht in der Literatur.

### **Das Basismodell der Zytodiagnostik**

Die Methode der Vaginalzytologie der Hündin gilt als nützlicher Indikator für die Ermittlung des Reproduktionsstatus (RIECK und KRATZHELLER, 1955; JEFFCOAT und LINDSAY, 1989; TAMMER et al., 1994). Diese Untersuchungsmethode bei der Hündin wurde als Basismodell für die Zyklus- und Graviditätsdiagnostik für den Großen Ameisenbären, wie nachfolgend beschrieben, modifiziert.

Durch die anatomischen Gegebenheiten beim Großen Ameisenbär ist es nicht möglich, das Zellmaterial aus der Vagina zu gewinnen. Das Vestibulum ist beim Großen Ameisenbär mit durchschnittlich 10,5 cm sehr lang, daher muss die Abstrichnahme aus dem dorsalen Vestibulum beziehungsweise aus dem Übergang Vestibulum-Vagina erfolgen. Die Veränderungen des Vestibular-Epithels stehen jedoch in direkter Abhängigkeit zur endokrinen Situation. Somit eignet sich die Zytodiagnostik für die Bestimmung der Zykluslänge, der Zyklusphasen und für die Graviditätsdiagnostik.

Bemerkenswert ist die Feststellung, dass das Vorkommen von Schollen im Abstrichmaterial gering ist. Dagegen ist der signifikante Anstieg der Superfizial- und Intermediärzellen charakteristisch für die Phase des Östrus.

Die Zuordnung des Zellcharakters wurde den beim Haushund beziehungsweise der Katze unter anderem von RIECK und KRATZHELLER (1955), CHRISTIANSEN (1984) sowie TAMMER und Mitarbeitern (1994) beschriebenen Zellen des Vaginalepithels nachempfunden.

Da die Probenahme täglich durchgeführt wurde und bei geschickter Handhabung in nur wenigen Sekunden durchführbar ist, wurde sie von den Tieren nach nur kurzer Konditionierung problemlos und ohne Anzeichen von Stress toleriert. Sie erfolgte stets mit einem Spreizspekulum, um eine Kontamination der Probe zu vermeiden (CHRISTIANSEN, 1984). Laut der Autoren STRASSER (1971), GÜNZEL und Mitarbeitern (1984 und 1985), CHRISTIANSEN (1984), ARNOLD (1994) und WOLLRAB (1997), sollte der Watteträger mit steriler Kochsalzlösung angefeuchtet werden, um eine bessere Aufnahme des Zellmaterials zu gewährleisten. Diese Empfehlung kann durch die eigene Untersuchung bekräftigt werden.

Auf eine Trichromfärbung wie die Färbung nach PAPANICOLAOU-SHORR wurde wegen der aufwendigen Färbetechnik verzichtet. Sicherlich wären damit weitergehende Aussagen über das histochemische Verhalten des Vaginalepithels möglich gewesen. Da jedoch die unterschiedlichen Zelltypen durch ihre Form und Größe ausreichend differenziert werden konnten, wurde die schnellere und in jedem Labor durchführbare Haema-Schnellfärbung auf der Grundlage der Eosin-Thiazin-Färbung für die Routine-Untersuchung angewandt. Zellform, Kernstruktur und das Zytoplasma ließen sich mit dieser Färbung gut darstellen. Ein weiterer Vorteil dieser Methode war die Lagerfähigkeit der gewonnenen Abstriche nach kurzer Trockenfixation bis zur ihrer Verarbeitung im Labor. Nur in Einzelfällen waren die Abstriche durch Fehlfärbung oder ungewöhnliche Farbablagerungen nicht auswertbar.

Mit dieser Auswertungsmethode war es allerdings nicht möglich, Aussagen über die absolute Zellzahl zu machen. Nur relative Verschiebungen im

prozentualen Epithelzellvorkommen konnten verdeutlicht werden. Die Zuordnung der Vestibularepithel-Zellarten in Basal-, Parabasal-, Intermediär-, kernhaltige und kernlose Superfizialzellen erfolgte auf der Grundlage der in der Literatur (RIECK et al., 1955; HAENISCH, 1980; TAMMER et al., 1994) üblichen Klassifizierung. Entscheidend für die Zellbeurteilung waren Größe, Form sowie das Verhältnis zwischen Kern und Zytoplasma, der Pyknosegrad und das Vorhandensein der Kernsubstanz (RIECK et al., 1955).

Es konnte herausgestellt werden, dass die Veränderungen des Vestibular-Epithels in direkter Abhängigkeit zur endokrinen Lage stehen, und die Methode der Vestibular-Zytologie beim Großen Ameisenbären die Methode der Wahl für die Zyklusbestimmung darstellt. Durch diese reproduktionsbiologische Untersuchungsmethode konnte der Zyklusablauf und die Zykluslänge des Großen Ameisenbären geklärt werden.

Die zytologisch ermittelte durchschnittliche Zykluslänge ließ sich so mit  $51,3 \pm 2,8$  Tagen festlegen. Dabei hatte der Östrus eine durchschnittliche Länge von  $16,0 \pm 4,8$  Tagen, der darauffolgende Interöstrus dauerte  $24,7 \pm 2,9$  Tage und der Proöstrus  $10,9 \pm 4,0$  Tage.

Herausgestellt sei in dieser Arbeit der eindeutige Nachweis einer proöstrischen Aufbaublutung, da Erythrozyten im Proöstrus, aber auch teilweise im Östrus und darüber hinaus, im zytologischen Bild auftauchen.

Zum endgültigen Beweis der vestibularzytologisch festgestellten Zykluslänge wurde parallel dazu bei einigen Tieren die **koprologische Untersuchung** durchgeführt. Hier konnte auf die Erfahrungen von PATZL und Mitarbeitern (1998) zurückgegriffen werden.

Offensichtlich spricht im Zyklus des Großen Ameisenbären das Östradiol-17 $\beta$  eine überragende Rolle. Sowohl für Östradiol-17 $\beta$  als auch für die Gesamtöstrogene konnten spezifische Antikörper in dieser Analyse eingesetzt werden (PATZL et al., 1998). Im Gegensatz dazu wurde das Progesteron vor der Exkretion in viele verschiedene Komponenten metabolisiert, woraus resultierte, dass spezifische Antikörper für diese Steroide weniger geeignet waren. Für die Messung des Progesteron im Kot wurden stattdessen zwei gruppenspezifische Antikörper verwendet, die für die Identifizierung Einsatz

finden konnten, und zwar das 20 $\alpha$ -Hydroxy- und das 20-oxo- Progesteron. Deutlichere Ergebnisse erzielte man jedoch mit den Antikörpern von 20 $\alpha$ -Hydroxy- Progesteron, da höhere Konzentrationen erreicht wurden und so ein Hormonumschwung schneller zu erkennen war. Dies bestätigte die HPLC-Analyse, da 20 $\alpha$ -OH-P in der späten Trächtigkeit mehr Metaboliten aufdeckte als die 20-oxo-P-Antikörper (PATZL et al., 1998).

Die Progesteron-Metaboliten aus dem Kot dieser Spezies sind noch nicht alle identifiziert, aber PALME und Mitarbeiter (1997) beschreiben die Lösungsprofile verschiedener Trächtigkeitsstadien auf einer vergleichbaren unverdünnten Phase des HPLC-Systems. Diese Phase legt nahe, dass sich die Metaboliten in den Fraktionen 33 bis 45 befinden und es sich um dehydroxyliertes 5 $\alpha$ - oder 5 $\beta$ -Pregnan handelt. Die gefundenen Metaboliten lösten sich erst zu einem späteren Zeitpunkt als Fraktion 45 heraus und waren polarer als die Pregnandiole. Daher ist es wahrscheinlich, dass es sich um Pregnantriole handelte (PATZL et al., 1998). Die Ergebnisse der Analyse von fünf untersuchten Tieren ergaben zum damaligen Zeitpunkt, dass die Aktivität der Ovarien beziehungsweise der Plazenten hinlänglich ausreicht, um Aussagen bei zweimal wöchentlich gewonnenen Kotproben treffen zu können.

PATZL und Mitarbeiter (1998) legten in ihrer Hormonanalyse eine Zykluslänge von  $51,4 \pm 5,6$  Tagen fest (in einem Bereich von 44 bis 63 Tagen). Aus den gemessenen Werten ging hervor, dass die Follikelphase ein bis zwei Wochen andauerte, gefolgt von einer Corpus-luteum-Phase, mit einer Länge von vier bis sechs Wochen.

Die in der vorliegenden Arbeit **hormonanalytisch ermittelte durchschnittliche Zykluslänge** beträgt bei (n=6) Großen Ameisenbären  **$56,2 \pm 17,4$  Tage**. Die östrogendominante Phase hat dabei eine durchschnittliche Länge von 7-14 Tagen, gefolgt von der Corpus-luteum-Phase, die im Mittel zwischen 28 und 42 Tagen andauerte.

Wie auch mit der Methode der Vestibularzytologie erarbeitet wurde, variiert die Zykluslänge zwischen den einzelnen Weibchen nicht merklich. Das Individuum weist im Allgemeinen, wie durch Wiederholungsuntersuchungen festgestellt werden konnte, eine stabile Zykluslänge auf.

Der Östrogenanstieg im Zyklusverlauf mit einem deutlichen Peak ist der Phase des Östrus zuzuordnen. Durch die eigenen vestibularzytologischen Untersuchungen ist diese Festlegung möglich geworden. Durch das Intervall zwischen den Östrogenpeaks ergibt sich die mittlere Zykluslänge. Nach dem jeweiligen Östrogenpeak konnte eine präovulatorische Progesteronbildung ermittelt werden. Dies ist vergleichbar mit dem Zyklusverlauf der Caniden, bei denen als Besonderheit die Progesteronwerte am Ende des Östrus ansteigen. Die Ovulation wird bei der Hündin erst bei einer Plasmakonzentration von  $>5$  ng/ml beobachtet (CONCANNON et al., 1989). Analog dazu erfolgt im Östrus beim Großen Ameisenbären ein Progesteronanstieg im Kot, was bislang für eine Spezies der Ordnung Xenarthra noch nicht beschrieben wurde. Die Progesteronkonzentrationen erreichen hier in der ersten Hälfte des Interöstrus Maximalwerte und sinken in der zweiten Hälfte wieder deutlich ab. Bei der Hündin erreicht die Progesteronkonzentration (ng/ml Plasma) im ersten Drittel des Diöstrus Maximalwerte von etwa 20 ng/ml und fällt ab dem 30. Tag post ovulationem langsam wieder ab. Im Anöstrus liegen die Progesteronwerte unter 1 ng/ml Plasma (CONCANNON, 1993).

In der zweiten Hälfte der Lutealphase der Hündin wirken LH und Prolaktin als luteotrope Faktoren (HOFFMANN et al., 2004; ENGEL, 2004). Die der Luteolyse zugrunde liegenden Faktoren sind zumindest bei der ingraviden Hündin noch nicht ausreichend erforscht. Im Gegensatz zu den anderen Haussäugetieren wird die Luteolyse offenbar nicht durch ein uterines Luteolysin ( $\text{PGF}_{2\alpha}$ ) initiiert (HOFFMANN et al.; ENGEL, 2004). HOFFMANN und Mitarbeiter (2004) postulieren aufgrund dieser Beobachtungen, dass bei der Hündin die Regression der C.I. vor allem parakrinen und/oder autokrinen Steuerungsmechanismen unterliegt. Ob gleichlaufende Verhältnisse für den Großen Ameisenbären zutreffen, bleibt als offene Frage bestehen. Denkbar wäre es zumindest, da bei dieser Tierart eine fast deckungsgleiche Zyklussteuerung, abgesehen von der Polyöstrie – im Gegensatz zur caninen Monöstrie – besteht.

Bei den Großen Ameisenbären blieb in dieser Untersuchung allerdings die Tatsache ungeklärt, woran es liegt, dass es zwischen den Individuen deutliche Unterschiede der Östrogen- und Progesteron-Maximalwerte gab. Die Maximalwerte für das Östrogen schwankten in der Östrusphase zwischen 16 und 150 ng/g Kot. Beim Progesteron lagen die Werte zwischen 110 und 860 ng/g Kot. Aber auch innerhalb individueller Zyklusabläufe konnten deutliche Schwankungen beobachtet werden.

So zeigten beispielsweise zwei *ältere* Tiere („Vera“ und „Mira“) im Untersuchungszeitraum verlängerte Interöstrus-Phasen. Bei diesen Weibchen lag der Verdacht auf embryonalen Tod oder des unbemerkten Abortes der Früchte nahe. Beide Ameisenbären durchliefen eine Kohabitationsphase, der sich eine diöstrische Ruhephase anschloss. Diese Ruhephase wurde als vermeintliche Gravidität angesehen. Der begründete Hinweis auf eine stattgefundene Kohabitation ergab sich aus dem Spermienfund im Abstrichmaterial.

Die Ergebnisse der Hormonanalyse waren bei einem weiteren, zum Untersuchungszeitpunkt *juvenilen* Tier („Juanita“), nicht so eindeutig. Die Hormonwerte stimmten nicht mit den vestibularzytologisch ermittelten Ergebnissen überein. Die Östrogen-Konzentrationen waren im Mittel deutlich höher als bei den anderen Weibchen, es zeigte sich aber im Hormonprofil kein deutlicher Östrogen-Peak. Zytologisch war es dagegen möglich, den ersten Östrus zu ermitteln. Bei dieser juvenilen Ameisenbärin hatte sich der Hormonstatus zum Zeitpunkt der Untersuchung offenbar noch nicht eingependelt.

Zusammen mit den vestibularzytologischen Ergebnissen, die in dieser Untersuchung gewonnen wurden, liefern die erstellten Hormonprofile zusätzliche Erkenntnisse über den Zyklus und seine einzelnen Phasen, ebenso wie über den Verlauf der Graviditätsstadien von Großen Ameisenbären. Kritisch muss allerdings die aufwendige Hormonanalytik hinsichtlich der Praktikabilität in der Zootierhaltung gesehen werden. Mit der Methode der hormonanalytischen Untersuchung des Kotes ist es unmöglich, eine schnelle Aussage über den aktuellen Zyklusstand zu treffen. Die Analyse ist sehr zeitaufwendig und muss in einem Speziallabor durchgeführt werden



(PATZL, 1998). Die Konditionierung der Großen Ameisenbären zur Abstrichnahme ist ohne großen Aufwand verbunden und die beschriebene Methodik ist jederzeit in Praxis umsetzbar, da sie unter einfachen Laborbedingungen Sofortergebnisse liefert und sich für Wiederholungsuntersuchungen eignet. Die in der vorliegenden Arbeit zytologisch ermittelte, durchschnittliche Zykluslänge weicht nur gering von der hormonanalytisch ermittelten Zykluslänge sowohl in der eigenen, als auch in der von PATZL und Mitarbeitern (1998) durchgeführten Studie ab.

Die weit reichenden Untersuchungen und endokrinologischen Nachweise gestatten die eindeutige Aussage, dass der Große Ameisenbär, obwohl keine verwandtschaftlichen Beziehungen zu den Caniden und Feliden bestehen, ebenfalls wie die letztgenannten Tiergruppen eine deutliche Beteiligung der oberen Schleimhautschichten in Abhängigkeit von der hormonellen Lage aufweist. Durch die Vestibularzytologie und durch koprologische Hormonbestimmungen konnte festgestellt werden, dass Große Ameisenbären "ex situ" einen **asaisonal-polyöstrischen Zyklus** aufweisen, da keine jahreszeitliche Abhängigkeit in Verbindung mit einer lang andauernden ovariellen Ruhephase erkennbar ist. Die Frage, inwieweit sich diese Beobachtung auf die Situation frei lebender – "in situ" lebender - Tiere übertragen lässt, muss zum gegenwärtigen Zeitpunkt offen bleiben.

Nachdem die Methodik zum Nachweis der Zyklizität feststand, folgte als weiterer Schritt die Untersuchung im Hinblick auf den **Graviditätsnachweis** und **die Bestimmung des Geburtszeitpunktes**. Aus diesem Untersuchungsabschnitt sind einige hochinteressante Ergebnisse abzuleiten, die das Verständnis für das Reproduktionsgeschehen beim Großen Ameisenbären vertiefen.

Als eigenartigster Befund kann gelten, dass bei den Weibchen, die zum Untersuchungszeitpunkt mit einem männlichen Tier vergesellschaftet waren, Spermien zu allen Zyklusphasen im vestibulo-vaginalen Abstrichmaterial nachgewiesen werden konnten. Allerdings wurden die Spermatozyten in der Phase des Östrus in besonders hoher Dichte gefunden und dann auch kontinuierlich über mehrere Tage. Der erste Tag des Östrus, an dem Spermien in größerer Anzahl nachzuweisen waren, diente der exakten Berechnung des Geburtstermins. Vereinzelt erfolgte der Nachweis der Spermien in der Phase des Interöstrus, obwohl die Östrogenwerte nicht erhöht und keine östrogenassoziierten Zellen zu finden waren. Auch während der Gravidität sind Spermien in den Abstrichen zu finden, was außerordentlich bemerkenswert ist. Zirka sechs bis acht Wochen vor der Geburt, also bis zur Isolierung des Weibchens, ist es möglich, auch in dem späten Stadium der Gravidität Spermien im Vestibularabstrich nachzuweisen. Weibliche Tiere werden demnach trotz bestehender Gravidität fortlaufend gedeckt.

Die Interpretation dieses Verhaltens von Großen Ameisenbären in menschlicher Obhut und unter engeren Raumverhältnissen ist nicht einfach. Es wäre möglich, dass es sich um eine erworbene Eigenschaft handelt, deren Auftreten in freier Wildbahn als nicht wahrscheinlich gilt, da Große Ameisenbären im ursprünglichen Lebensraum solitär leben und somit während der Zeit der Gravidität, Geburt und Jungtieraufzucht wohl keinerlei Kontakt zum männlichen Tier haben (GRZIMEK, 1979/80; MÖLLER, 1988; EISENBERG, 1989; BARTMANN, *mündliche Mitteilung*). Unter Zoobedingungen mit kleineren räumlichen Verhältnissen könnte es also sein, dass dies ein Ergebnis des engeren Zusammenlebens ist.

Mit Berücksichtigung der endokrinologischen Ergebnisse ist nicht nachvollziehbar, warum es zur Kohabitation während der Gravidität kommt, da die Östrogenwerte während der Gravidität gleich bleibend niedrig sind und

erst zirka vier Wochen ante partum ansteigen. Nach allgemeinem Verständnis ist eine Östrogenisierung notwendig, um Östrusanzeichen zu bewirken. Damit wird beim Weibchen das Duldungsverhalten und beim männlichen Tier der Reiz für den Deckakt ausgelöst. Dies ist nicht der Fall. So bleibt als Erklärung das Kohabitationsverhalten des Großen Ameisenbären. Innerer und äußerer Bau des Penis erlauben bei nur mäßiger Erektion kein tiefes Eindringen in die Vagina des Weibchens (BARTMANN et al., 1991). Dies zeigt, dass keine invasive Emissio beim Großen Ameisenbären stattfindet, sondern nur ein nicht intensiver, vager Kontakt zwischen Penisöffnung und Rima vulva, was offensichtlich das Weibchen während der Gravidität toleriert.

Eine **Optimierung der Graviditätsdiagnostik** beim Großen Ameisenbär wurde durch die Kombination der nachfolgend beschriebenen Untersuchungsmethoden erreicht.

Die *Bestimmung des Bauchumfangs* wurde bisher für die Graviditätsdiagnostik dieser Tierart ausschließlich eingesetzt (BARTMANN, *mündliche Mitteilung*, KORNILJEWA et al. 1975). Die deutliche Zunahme des Bauchumfangs zirka einen Monat vor dem Partus (BARTMANN, *mündliche Mitteilung*; KORNILJEWA et al., 1975) ist jedoch eine sehr unsichere Methode zur Graviditätsdiagnostik, da sie vom Untersucher ein hohes Maß an Erfahrung und fortlaufende Messungen erfordert. Eigene klinische Beobachtungen bekräftigten die Ergebnisse von BARTMANN (*mündliche Mitteilung*), welcher feststellte, dass die Umfangszunahme während der Trächtigkeit individuell unterschiedlich stark ausgeprägt ist. Das äußere weibliche Genitale in der späten Gravidität zeigt eine starke Ödematisierung sowie Rötung der Vulva und der vestibulären Schleimhaut 10 bis 14 Tage vor der Geburt. Die Ausmaße der Vulva erreichen eine Länge von bis zu acht und eine Breite von bis zu sechs Zentimetern.

Zirka drei bis vier Wochen ante partum beobachtete POGLAYEN-NEUWALL (1990) in seinen Untersuchungen eine Schwellung der Milchdrüsen, eine Verlängerung der Zitzen und das Hervortreten eines milchähnlichen Sekretes. Diese Feststellungen konnten bestätigt werden, da es bereits drei Wochen vor der Geburt möglich war, Milch abzumelken.

An erster Stelle der Graviditätsdiagnostik stand in dieser Arbeit die *vestibuläre Abstrichmethode*. Mit einer besonders hohen Spermiedichte im Abstrichmaterial zum Zeitpunkt des Östrus und dem Ausbleiben des darauf folgenden Östrus bestand der Verdacht einer Frühgravidität. Zudem erfolgte mit dieser Methode eine genaue Berechnung des Geburtstermins und der Graviditätslänge. Als Resultat für die exakte Ermittlung der Graviditätslänge kann die Dauer von  $181 \pm 3$  Tagen angegeben werden. In der Literatur wird unter anderem von MÖLLER (1988), BARTMANN (*mündliche Mitteilung*), POGLAYEN-NEUWALL (1990) sowie PATZL und Mitarbeiter (1998) eine Länge von 180 bis 190 Tagen beschrieben, so dass es durch die eigenen Untersuchungen eine Präzisierung der bis dahin bekannten Daten möglich ist.

Weitere Informationen über die bestehende Gravidität und deren Verlauf lieferten die *hormonanalytischen Untersuchungen* des Kotes. Die Verläufe der Östrogen- und Progesteronmetaboliten bestätigen die Ergebnisse von PATZL und Mitarbeitern (1998). Die an zwei Tieren erhobenen Befunde können aufgrund der hier vorgelegten Untersuchung nicht nur bestätigt, sondern auch anhand von drei komplett hormonanalytisch untersuchten Graviditäten, wesentlich vertieft werden. Damit war es möglich, die biologische Varianz, wie immer bei solch einem Zustand, besser zu erfassen und einzuordnen.

Herauszustellen ist, dass die Östrogenwerte während der Gravidität niedrig sind und erst kurz vor der Geburt ansteigen. Der kontinuierliche Anstieg der Östrogene konnte nur für das letzte Graviditätsdrittel verzeichnet werden. Um den Geburtszeitpunkt herum wurden die Östrogen-Höchstwerte ermittelt. Ab der zweiten Hälfte der Gravidität erfolgte eigenartigerweise der rasche Anstieg der Progestagenwerte. Zirka vier Wochen ante partum stiegen die Werte rasant an, um am Tag der Geburt Höchstwerte zu erreichen. In der ersten Woche post partum sanken sowohl die Östrogen- als auch die Progestagenwerte wieder deutlich ab. Bei den immunreaktiven Progestagen-Metaboliten handelt es sich um 20 $\alpha$ -OH-P und 20-oxo-P.

Allerdings war es mit der Methode der Hormonanalytik unmöglich, eine schnelle Diagnose über eine eventuell bestehende Gravidität zu treffen. Sie ist sehr aufwendig und muss in einem Speziallabor durchgeführt werden. Neu

ist die Korrelation zwischen der Vestibularzytologie und den koprologischen Untersuchungen.

Nachdem die Verdachtsdiagnose Gravidität gestellt wird (durch Vestibularzytologie und/oder klinische Beobachtungen), ist es sinnvoll, ab der zweiten Hälfte der Gravidität (ab dem 90. Tag post cohabitationem) mit der Kotprobenanalyse zu beginnen und die Progestagenwerte regelmäßig zu bestimmen.

Aber die moderne Medizintechnik eröffnet noch andere Möglichkeiten der Graviditätsdiagnostik. Mittels der *transabdominalen Sonographie* wurde eine regelmäßige Graviditätsdiagnostik und -kontrolle durchgeführt. Voraussetzung dafür war eine Konditionierung der Tiere, die sich bei entsprechend besonnener Vorgehensweise problemlos an die Manipulationen gewöhnten. Die Kontroll-Untersuchungen erfolgten während der Futteraufnahme und wurde von allen Probandinnen toleriert.

Bereits in der neunten Graviditätswoche war es in einem Fall möglich, eine Gravidität durch transkutane Sonographie zu diagnostizieren. Eine präzisere Graviditätsdiagnose konnte im Allgemeinen ab der 12.-13. Woche gestellt werden. Der weitere Graviditätsverlauf und die Entwicklung des Neonaten wurde dokumentiert. Im Untersuchungszeitraum konnten mit dem transportablen SONO ACE 600® Ultraschallgerät ausschließlich *transkutane* Untersuchungen routinemäßig durchgeführt werden.

Durch eine einmalig erfolgte *transrektale sonographische Untersuchung* war es möglich, eine bestehende Gravidität in der achten Woche zu diagnostizieren. Der Aufwand war jedoch sehr hoch, da diese Untersuchungsmethode bis zum jetzigen Zeitpunkt nur am immobilisierten Tier durchführbar ist. Für die routinemäßige *transrektale sonographische* Untersuchung muss für diese Tierart und für das zur Verfügung stehende Ultraschallgerät noch ein passender Schallkopf entwickelt werden. Ob die Tiere eine transrektale Untersuchung ohne Immobilisation tolerieren, bleibt zum jetzigen Zeitpunkt offen. Eine routinemäßige Trächtigkeitskontrolle in Vollnarkose ist durch das hohe Gesundheitsrisiko für Muttertier und Fetus klinisch nicht durchführbar, jedoch ist die transrektale der transkutanen Sonographie bei der Graviditätsdiagnostik naturgemäß überlegen. Wie schon

GÖRITZ und HILDEBRAND (1996) beschrieben, wird die transrektale Darstellung von Fetus-Körperteilen durch das bessere Auflösungsvermögen präzisiert.

Laut GÖRITZ und HILDEBRAND (1996) erfolgte diese Untersuchungsmethode beim Wildtier bisher nur im Einzelfall und nicht routinemäßig. Der Zugriff auf Zoo- und Wildtiere ist durch eine begrenzte Individuenzahl und den hohen materiellen Wert der Tiere stark eingeschränkt. Die transkutane sonographische Graviditätskontrolle leistet Pionierarbeit auf dem Gebiet der Zootiermedizin. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit liefern wichtige morphologische Besonderheiten und Referenzdaten für die Graviditätsdiagnostik und den –verlauf beim Großen Ameisenbär, die auch zukünftig für die Optimierung der Zucht dieser seltenen Tierart von Nutzen sein werden. Die transkutane Sonographie ist empfehlenswert für die Praxis, da eine sichere Graviditätsdiagnostik ab der 12. Graviditätswoche gelingt und bereits ab der 8. Graviditätswoche die Verdachtsdiagnose gestellt werden kann.

Der **Geburtseintritt** ließ sich *vestibularzytologisch* nicht determinieren. Im Kot konnte präpartal ein Anstieg der Östrogenwerte nachgewiesen werden, interessanterweise gaben aber die Vestibularabstriche keine eindeutigen Hinweise darauf. Der erwartete Anstieg von Intermediär- und Superfizialzellen im Abstrichmaterial war nicht deutlich. Als Erklärung für diese Feststellung könnte die zeitgleich mit dem Östrogen-Anstieg verlaufende, bisher ungeklärte deutliche Zunahme der Progesteronkonzentration dienen, so dass sich durch das vestibularzytologische Bild keine eindeutigen Hinweise auf eine bevorstehende Geburt gewinnen lassen.

Die *Hormonanalyse* ergab, dass im letzten Drittel der Gravidität, also 49 bis 35 Tage vor der Geburt, der Östrogenwert bis zum Tag der Geburt kontinuierlich anstieg. Über die Gesamtzeit der Gravidität erfolgte zunächst ein gleichmäßiger Progesteron-Anstieg. Vier Wochen vor dem Geburtstermin stiegen die Werte rasant an, um am Tag der Geburt Maximalwerte zu erreichen. Unmittelbar post partum fielen sowohl die Östrogen- als auch die Progesteron-Konzentrationen wieder ab.

Mit der Hormonanalyse aus dem Kot war es ebenfalls unmöglich, eine schnelle Diagnose über eine bevorstehende Geburt zu treffen. Sie muss in einem Speziallabor durchgeführt werden und ist sehr zeit- und arbeitsaufwendig (PATZL et al., 1998). Durch die dadurch entstehende Zeitverzögerung ist es nicht möglich, den exakten Geburtstermin zu bestimmen.

Eigene klinische Beobachtungen des äußeren weiblichen Genitale in der späten Gravidität erbrachten eine starke Ödematisierung und Rötung der Vulva und deren Schleimhaut 10 bis 14 Tage vor der Geburt. Die Ausmaße erreichten eine Länge von bis zu acht und eine Breite von bis zu sechs Zentimetern. Damit wurden die Ergebnisse von BARTMANN (*mündliche Mitteilung*) bekräftigt.

Als weitere klinische Beobachtung galt die Feststellung, dass es bereits drei Wochen vor der Geburt möglich war, Milch abzumelken. Gleiches stellte POGLAYEN-NEUWALL (1990) in seinen Untersuchungen fest. Er beobachtete eine Schwellung der Milchdrüsen, eine Verlängerung der Zitzen und das Hervortreten eines milchähnlichen Sekretes, zirka drei bis vier Wochen vor der Geburt.

Die zytologische Ermittlung des **ersten Östrus post partum** ergab sich aus der Analyse von sieben post-partum-Perioden. Dabei wurde unterschieden zwischen erfolgreicher und erfolgloser Jungtieraufzucht. Damit unterliegt das Puerperium einer erstmaligen Beschreibung unter differenten Konditionen.

Die Untersuchung nach dem Tod des Neonaten, dafür standen zwei Muttertiere ohne Laktationsbelastung zur Verfügung, erbrachte, dass der erste Östrus post partum bereits nach 20 beziehungsweise 34 Tagen eintrat.

Während der Jungtieraufzucht und Laktationsperiode kam es zu Schwankungen beim Eintritt des Östrus. Im Durchschnitt trat der erste Östrus post partum  $92,2 \pm 43,5$  Tagen ein. Der Abstand lag zwischen dem 58. und 152. Tag nach der Geburt. Bereits in der zweiten Hälfte der Laktation, also in der Zeit der abnehmenden Milchbildung, beginnen Große Ameisenbären wieder zu zyklisieren.

Ursache dieser unterschiedlichen langen Perioden könnte der olfaktorische und visuelle Anreiz eines männlichen Tieres darstellen. Durch die vom

Männchen abgegebenen Pheromone schien bei den weiblichen Ameisenbären der erste Östrus post partum eher einzusetzen als bei den Weibchen ohne Kontakt zum männlichen Tier.

Die Beschäftigung mit reproduktionsphysiologischen Verläufen bei den verschiedenen Tierarten vertieft das Verständnis und gestattet eine zielgerechte Nutzung der Daten im Hinblick auf die Populationsvermehrung und den –erhalt. Anhand dieser Arbeit über Zyklizität, Gravidität und Puerperium bei Großen Ameisenbären war es möglich, verschiedene biologische Phänomene zu verdeutlichen und in den Kontext zu den Sexualabläufen zu stellen. So gelang es im Rahmen dieser Arbeit erstmalig die Einsatzmöglichkeit der Vestibularzytologie zur Bestimmung der Zyklusphasen darzulegen. Weiterhin konnte mit Hilfe dieser Technik die Zyklus- und Graviditätslänge sowie die ovarielle Aktivität in der Zeit post partum dargestellt werden.

Der Hauptzweck, das für die Zucht Großer Ameisenbären notwendige Rüstzeug zu liefern, ist erfüllt, so dass nun eine lückenlose reproduktionsbiologische Überwachung für diese Tierart möglich ist.



## 6.0 Zusammenfassung

Ziele dieser Arbeit waren, den bislang unbekannten Zyklusverlauf beim Großen Ameisenbär mittels *genitalzytologischer Untersuchungen* exakt festzulegen und ihn in seinen einzelnen Perioden spezifisch zu charakterisieren sowie die Möglichkeiten der Graviditätsdiagnose zu verbessern, die Geburtszeitbestimmung zu präzisieren und die postpartale ovarielle Funktion zu kontrollieren.

Als Probandinnen standen sechs weibliche Große Ameisenbären aus den Geburts-Jahrgängen 1988 bis 2000 zur Verfügung, von denen fünf Tiere einen regelmäßigen Zyklusverlauf zeigten. Der Untersuchungszeitraum für die vorliegende Arbeit erstreckte sich über eineinhalb Jahre. Bei der täglichen Kontrolle der Großen Ameisenbären ließen sich durch Adspektion, Palpation und Entnahme von Zellmaterial aus dem Vestibulum die Veränderungen im Zyklusverlauf registrieren. Im Verlauf der Beobachtungsspanne konnten so insgesamt 31 Östruszyklen und sechs vollständige Graviditätsperioden erfasst werden. Im Überwachungszeitraum kam es zu sieben Geburten und der Eintritt des ersten Östrus post partum wurde unter differenten Konditionen registriert.

In einer Voruntersuchung wurden zunächst genitalanatomische Grundlagen geschaffen, um die beim Haushund übliche Untersuchungstechnik für die Großen Ameisenbären modifizieren zu können.

Mittels **vestibulo-vaginaler Abstrichtechnik** konnte jederzeit und ohne Zwangsmaßnahmen oder Sedation der Tiere Zellmaterial aus dem dorsalen Abschnittes des Überganges von Vestibulum zur Vagina gewonnen werden. Durch Konditionierung der Probandinnen gelang es, sie an die notwendige vestibuläre Manipulation zu gewöhnen, so dass sie die Untersuchungen problemlos ohne Zwangsmaßnahmen während der Futteraufnahme zuließen. Die schnelle und in jedem Labor durchführbare Eosin-Thiazin-Färbung für die Abstriche hat sich für die Routine-Untersuchung bewährt. Zellformen, Kernstrukturen und das Zytoplasma ließen sich mit dieser Färbung gut darstellen. Die auf diese Weise ermittelten Zellformen erhielten eine bestimmte Zuordnung, erfuhren eine Einteilung nach deren Zellcharakter und deren prozentualer Anteil am Gesamtzellbild wurde festgelegt. Durch die

tägliche Abstrichnahme wurden so Veränderungen im Zyklusverlauf genau registriert. Es erfolgte auf dieser Basis die Bestimmung der einzelnen Zyklusphasen und die Ermittlung der Gesamtzykluslänge.

Als erstes Ergebnis der Untersuchung kann angegeben werden, dass der vestibularzytologisch ermittelte **Durchschnittszyklus** beim Großen Ameisenbären eine Länge von **51,3 ± 16,1 Tagen** hat. Die *Phaseneinteilung* des Zyklus kann dabei wie folgt beschrieben werden:

Der *Östrus* hat eine durchschnittliche Länge von 16 ± 4,8 Tagen, der sich daran anschließende *Interöstrus* weist eine Dauer von 24,7 ± 2,9 Tagen auf. Die Länge des *Proöstrus* kann mit 10,9 ± 4 Tagen angegeben werden.

Der Zyklus des Großen Ameisenbären ist unter den gegebenen Haltungsbedingungen als *asaisonal-polyöstrisch* einzustufen.

Weiterhin konnte festgelegt werden, dass für den Zyklus des Großen Ameisenbären eine Diapedeseblutung im Proöstrus charakteristisch ist. Dabei handelt es sich, ähnlich wie bei Caniden, um eine Aufbaublutung. Sie stammt aus dem Uterusepithel und sie ist bei 35% der Großen Ameisenbären noch bis in den Östrus gegeben.

Die **koprologische Bestimmung von Östrogen- und Progesteron-metaboliten** aus zweimal wöchentlich gesammelten Kotproben dient als flankierende Maßnahme zur Überprüfung der zytologischen Befunde. Die Hormonanalyse bestätigt die Ergebnisse der Vestibularzytologie. Die mit dieser Methode ermittelte **Gesamtzykluslänge** beträgt bei Großen Ameisenbären **56 ± 17,4 Tage** (n=6). Dabei hat die östrogendominante Phase eine Länge von zirka 7-14 Tagen, gefolgt von der Corpus-luteum-Phase, die im Mittel zwischen 28 und 42 Tagen dauert.

Während der Östrusphase erreichen die Östrogenkonzentrationen Höchstwerte. Sie steigen vom Basalwert (7,6 ng/g Kot) auf durchschnittlich 43,7 ng/g Kot (23 bis 63 ng/g Kot). Der Abstand zwischen zwei Östrogen-Peaks ergibt rechnerisch die durchschnittliche Zykluslänge. Die Östrogenkonzentrationen fallen unmittelbar nach Erreichen des höchsten Niveaus wieder auf Basalwerte ab. Nach dem jeweiligen Östrogen-Peak lässt sich eine präovulatorische Progesteronzunahme darstellen. Der Progesteron-

Basalwert steigt während der Lutealphase von 98,5 (35 bis 130) ng/g Kot auf Spitzenwerte von 268,7 (200 bis 400) ng/g Kot an.

Die Kohabitation ist anhand des dichten Spermiennachweises zu determinieren. Dies dient zugleich für die Berechnung des **Geburtstermines**. Die durchschnittliche **Graviditätsdauer** ist mit einer Länge von  $181 \pm 3$  Tagen ( $n=6$ ) zu ermitteln gewesen.

Drei komplette **Graviditäten** wurden während des Untersuchungszeitraums vestibularzytologisch und hormonanalytisch untersucht.

Die Zellzusammensetzung ähnelte in den ersten zwei Wochen der Gravidität dem Abstrichbild des frühen Interöstrus, im weiteren Verlauf der Gravidität stimmte das Zellbild mit den Ergebnissen in der Phase des späten Interöstrus überein. Wenn keine verlängerte Interöstrusphase auftrat und spätestens nach 10 Wochen kein Östruszyklus einsetzte, ließ sich die Verdachtsdiagnose „Gravidität“ stellen. Der Geburtseintritt war vestibularzytologisch nicht zu determinieren.

Als *Sonderbefund* konnte gelten, dass Spermien in geringen Quantitäten in allen Phasen des Zyklus und auch während der Gravidität gefunden wurden.

Der Verlauf der Hormonmetaboliten im Kot während der Gravidität stellte sich wie folgt dar. Der Östrogen-Basalwert bewegte sich während der ersten zwei Drittel der Gravidität bei 5,9 ng/g Kot, nahm allerdings im letzten Drittel (49 bis 35 Tage ante partum) kontinuierlich zu. Der Progesteron-Basalwert lag im Mittel bei 123 ng/g Kot und stieg ab der vierten Woche ante partum progressiv auf Höchstwerte zwischen 411 und 948 ng/g Kot an. Der peripartale Bereich ist demnach endokrinologisch charakterisiert durch hohe Östrogenwerte und einem fulminanten Anstieg der Progesteronmetaboliten. Unmittelbar post partum fielen sowohl die Östrogen- als auch die Progesteron-Konzentrationen wieder ab.

Die Graviditätsdiagnostik und –verlaufskontrolle mittels regelmäßiger **sonographischer Untersuchungen** wurde ebenfalls in dieser Arbeit etabliert. Die sonographische Untersuchungsmethode lieferte wertvolle Referenzdaten für Große Ameisenbären, die auch zukünftig für die Zucht-Optimierung von großem Nutzen sein werden. Zunächst wurde aufgrund der anatomischen

Besonderheiten Großer Ameisenbären eine Untersuchungstechnik für die transabdominale Sonographie entwickelt. Die Manipulationen erfolgten am stehenden Tier. Während der frühen Gravidität (oder bei sehr schlanken Weibchen) wurde der Schallkopf mit leichtem Druck nach kaudodorsal seitlich zwischen letzter Rippe und Hüfthöcker in der Flanke positioniert. In der zweiten Graviditätshälfte war der gravide Uterus optimal zu erreichen, wenn der Schallkopf am ventralen Abdomen entlang geführt und kaudal des Nabels platziert wurde. Die per Ultraschall ermittelten Daten wurden mit den Ergebnissen pathologisch-anatomischer Untersuchungen tot geborener und den klinischen Befunden der gesund geborenen Neonaten verglichen. Diese Referenzdaten können bei weiteren sonographischen Graviditäts-Verlaufskontrollen praktisch angewendet und verifiziert werden.

Es zeigte sich in den Untersuchungen, dass die transabdominale Sonographie für die praktische Anwendung empfehlenswert ist, da damit eine sichere Graviditätsdiagnostik ab der 12. Graviditätswoche gelingt, wobei bereits ab der 8. Graviditätswoche eine Verdachtsdiagnose gestellt werden kann.

Der ***Eintritt des ersten Östrus post partum*** konnte *vestibularzytologisch* anhand von sieben Puerperalverläufen ermittelt werden. Dabei kamen verschiedene Konditionen zum Tragen, so dass unterschieden werden konnte zwischen erfolgreicher und erfolgloser Jungtieraufzucht. Nach dem Tod eines Neonaten und damit totaler Laktationsruhe trat der erste Östrus post partum bereits nach 20 beziehungsweise 34 Tagen ein. Während der Laktationsperiode mit erfolgreicher Jungtieraufzucht kam es zu Schwankungen beim Eintritt des Östrus. Der Abstand lag zwischen 58 und 152 Tagen nach der Geburt.

Die drei *hormonanalytisch* untersuchten post-partum-Perioden zeigten im Fall einer erfolgreichen Jungtieraufzucht den ersten Östrogen-Peak nach 77 Tagen. Nach 33 beziehungsweise 37 Tagen post partum trat der erste Östrogen-Peak bei den Muttertieren ohne Laktation aufgrund einer Totgeburt in Erscheinung.

## 7.0 Summary

This study aimed to establish the so far unknown reproductive cycle of the Giant anteater. It included a specific characterisation of the single periods as well as the improvement of the techniques of pregnancy diagnosis, the setting of date of birth and furthermore the postpartal monitoring of the ovary function.

Six female Giant anteaters living in Dortmund Zoo and born between 1988 and 2000 were tested. Five of them showed a regular cycling pattern. Throughout a period of one and a half year, changes during their cycle were registered by daily visual examination, palpation and sampling of cell tissue from the vestibulum. During this period, 31 oestrus cycles and six complete pregnancies have been monitored. Seven births took place and the beginning of the first oestrus *post partum* has been registered under different conditions. In a pre-examination, basic genital anatomic knowledge was acquired to modify the examination techniques used in domestic dogs for use in the Giant anteater. With vestibulo-vaginal smears, cell tissue was sampled from the dorsal transition from the vestibulum to the vagina. This was possible without physical restraint or sedation of the animals. Conditioning of the six anteaters enabled training on the vestibular manipulation, and the animals tolerated the examination during feeding time. For a routine analysis, the eosin-thiazine staining method proved to be worthwhile as a fast method which can be easily applied in every lab and shows cell form, nucleus structure and the cytoplasm. This allowed classification and characterisation of cells and the determination of their proportion. On this basis, the length of the cycle and its single phases were established.

First results shows a mean cycle length of  $51.3 \pm 16.1$  days, with the oestrus being  $16.0 \pm 4.8$  days, the dioestrus  $24.7 \pm 2.9$  days and the prooestrus  $10.8 \pm 4.0$  days. Thus, under the given husbandry conditions, the Giant anteaters' cycle is aseasonal and polyoestrous. Similar as in canids the prooestrus is characterised by a diapedesis from the uterine epithelium. In one third of the animals it persisted until the oestrus.

The coprological determination of oestrogen and progesterone metabolites from scat samples collected twice a week served as a control of and confirmed the cytological findings as follows. By hormone analysis, the whole cycle of the anteaters lasted  $56.0 \pm 17.4$  days. During one to two weeks, oestrogen was dominant followed by a phase of *corpus luteum* of four to seven weeks. During oestrus, oestrogen concentrations reached highest values of 43.7 ng/g faeces in average (23.0 to 63.0 ng/g faeces) with a basal value of 7.6 ng/g faeces. The distance between two oestrogen peaks resulted into the average cycle length. After an oestrogen peak, a pre-ovulatory increase of progesterone was measured. Values of progesterone ranged from 98.5 ng/g faeces in average (35.0 to 130.0 ng/g faeces) to 268.7 ng/g faeces in average (200.0 to 400.0 ng/g faeces). Cohabitation was determined by the proof of high and dense numbers of sperm cells, which was also used for the calculation of the date of birth. The mean pregnancy length was  $181 \pm 3$  days.

In this study, three complete pregnancies have been accompanied by vestibular cytological methods and hormone analysis. During the first two weeks, cell smears were similar to metoestrus, in the following course they were similar to the dioestrus. If there was no prolonged dioestrus and no oestrus after ten weeks, pregnancy was suspected. The start of birth could not be recognized through vestibular smears. As a side finding low numbers of sperm cells could be documented throughout pregnancy. Considering the hormone analysis, the oestrogen value was 5.9 ng/g faeces during the first two third (49 to 35 days *ante partum*). The mean progesterone was 123.0 ng/g faeces and increased four weeks *ante partum* to highest values of 411.0 and 948.0 ng/g faeces. Endocrinological characteristics around birth are high oestrogen values and marked increase of progesterone metabolites. Immediately after birth, oestrogen and progesterone concentrations dropped down.

Pregnancy diagnosis and monitoring by regular ultrasound examinations were also established with this study. The valuable references data obtained so far will be of great use for the optimisation of the breeding of captive Giant anteater.

First, a trans-abdominal sonography method was developed considering the anatomical features of these animals. During early pregnancy or for very thin females the ultra sonographic probe was positioned on the standing animal between the last rib and the coxal tuberosity with gentle pressure in caudo-dorsal direction. In the second half of pregnancy the probe was positioned caudal of the umbilicus. The ultrasound data were combined with necropsy findings of stillborn anteaters and with clinical findings of healthy newborns. These reference data collected so far can be applied and verified in future examinations. Ultrasonography is recommendable for the practice, because a safe diagnosis can be done in the 12<sup>th</sup> week, with a first suspect in week eight.

During seven puerperial periods, the first postpartal oestrus could be determined by vestibular cytological smears. Because of different conditions it was differentiated between successful and unsuccessful rearing of offspring. After death of neonate and no lactation, the first postpartal oestrus was diagnosed 20 and 34 days after birth, respectively. During successful lactation the time period was between 58 and 152 days. Three hormone analyses during postpartal periods showed the first oestrogen peak after 77 days in an animal with successful lactation and after 33 and 37 days in animals with stillbirth and no lactation, respectively.

## 8.0 Literaturverzeichnis

ARBEITER, K. (1994):

Anwendung von Hormonen in der Reproduktion von Hund und Katze.

In DÖCKE, F. (Hrsg.):

Veterinärmedizinische Endokrinologie

Gustav Fischer Verlag Jena, Stuttgart: 823-841

ARNOLD, S. (1994):

Weiblicher Geschlechtsapparat.

In NIEMAND, H. G., P. F. SUTER (Hrsg.):

Praktikum der Hundeklinik

Blackwell Wissenschafts-Verlag, Berlin: 615-619

BAMBERG, E., S. CHOI, E. MÖSTL (1986):

Östrogenbestimmung im Kot zur Trächtigkeitsdiagnose bei Pferd, Rind, Schwein, Schaf und Ziege.

Tierärztl. Umsch. 41: 404-408

BARTMANN, W. (1983):

Haltung und Zucht von Großen Ameisenbären, *Myrmecophaga tridactyla* Linné, 1758, im Dortmunder Tierpark.

Zoologischer Garten (NF) 53: 1-31

BARTMANN, W. (1985):

Geburt und Handaufzucht eines Großen Ameisenbären (*Myrmecophaga tridactyla*) im Tierpark Dortmund.

Ztschr. des Kölner Zoo 28: 51-60

BARTMANN, W. (1993):

Breeding anteaters in Captivity.

W. Bartmann, Dortmund Zoo, Mergelteichstr. 80, Germany: 1-6

BARTMANN, W. (*mündliche Mitteilung*, 1998 und 1999)



BARTMANN, W. (1999-2000):

Internationales Zuchtbuch für den Großen Ameisenbären, *Myrmecophaga tridactyla* (Linné, 1758)

Zuchtbuchführer: Dr. Wolf Bartmann

Zoo Dortmund, Mergelteichstrasse 80, D - 44225 Dortmund

BARTMANN, C. P., C. BEYER, H. WISSDORF (1991):

Topographie der Beckenhöhlenorgane sowie Befunde zur Makroskopie und Histologie der Geschlechtsorgane eines männlichen Großen Ameisenbären (*Myrmecophaga tridactyla*) im Hinblick auf seine Fertilität.

Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 104: 41-46

BOSTEDT, H. (*mündliche Mitteilung*, 2004)

BUSCH, W., E. BAMBERG (1990):

Trächtigkeitsdiagnose beim Schaf.

Tierärztl. Umsch. 45: 430-434

CHOI, H. S., J. HOIS, E. BAMBERG (1986):

Hormonanalytische Trächtigkeitsdiagnose beim Schwein.

Wien. Tierärztl. Monatsschrift 73: 94-96

CHRISTIANSEN, J. (1984):

Reproduction in the dog and cat.

British Library Cataloguing in Publication Data: 3-40 und 225-242

DURRANT, B., N. CZEKALA, M. OLSON, A. ANDERSEN, D. AMODEO, R. CAMPOS-MORALES, F. GUAL-SILL, J. RAMOS-GARZA (2002):

Papanicolaou staining of exfoliated vaginal epithelial cells facilitates the prediction of ovulation in the giant panda.

Theriogenology 57: 1855-1864

DREIER, H. K. (1985):

Gynäkologie, Geburtshilfe und Andrologie.

In: KRAFT, W. und U. DÜRR (Hrsg.):

Katzenkrankheiten, Klinik und Therapie

Verlag M. u. H. Schaper, Hannover: 449-471

EMMONS, L. H. (1990):

Neotropical rainforest mammals. a field guide.

Anteaters, Sloths, and Armadillos (Xenarthra)

The University of Chicago Press, Ltd., London: 31-35

EISENBERG, J. F., K. H. REDFORD (1989):

Mammals of the neotropics, the northern neotropics.

Volume 1: Panama, Columbia, Venezuela, Guyana, Suriname, French Guiana

3: Order Xenarthra (Edendata): 50-55

The University of Chicago Press, Ltd., London

EISENBERG, J. F., K. H. REDFORD (1999):

Mammals of the neotropics, the northern neotropics.

Volume 3: 6: Order Xenarthra (Edendata): 90-94

The University of Chicago Press, Ltd., London

GÖLTENBOTH, R., R. FRANKE (1990):

Zyklus- und Trächtigkeitsdiagnose durch Kotanalysen beim Spitzmaulnashorn, Indischen Elefanten und Okapi.

Tagungsbericht der 10. Arbeitstagung der Zootierärzte im deutschsprachigen Raum, 2.-4. November 1990 Zoo Basel: 25-32

GÖRITZ, F., TH. HILDEBRANDT (1996):

Ultraschalldiagnostik bei Zoo- und Wildtieren.

In WIESNER, E. (Hrsg.) Handlexikon der tierärztlichen Praxis:

854-854s (20pp.)

GÖRITZ, F., T. HILDEBRANDT, K. JEWGENOW, N. WAGNER, R. HERMES, G. STRAUß, H. H. D. MEYER (1997):

Transrectal ultrasonographic examination of the female urogenital tract in nonpregnant and pregnant captive bears (Ursidae).

J. Reprod. Fert. Suppl. 51: 303-312

GRASSÉ, P.-P. (1955):

Traité de Zoologie.

Anatomie, Systematique, Biologie

Mammifères , Ordre des édentatés, Sous-ordres de xenarthres, Bd. 17

Masson, G., Éditeur, Paris: 1182-1246

GROTE, T. (1943):

Die äußere Form der Leber von Tamandua tetradactyla.

Anatom. Institut der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster, Diss.

GRZIMEK, B. (1979/80):

Grzimeks Tierleben Band XI, Säugetiere 2,

Enzyklopädie des Tierreichs

Lizenzausgabe für Weltbild Verlag, Augsburg (2000): 162-194

GÜNZEL-APEL, A. R., A. LÜBKE, J. RHODE (1999):

Vergleichende Untersuchungen der vaginalen und uterinen Zytologie und Keimflora im Sexualzyklus und Puerperium von Beaglehündinnen.

Tierärztl. Praxis Ausgabe K, 27: 112-119

GÜNZEL, A. R., C. KLUG-SIMON, I. PEUKERT-ADAM (1984):

Zum Fortpflanzungsgeschehen der Katze: Korrespondierende ovarielle und vaginalzytologische Befunde.

Prakt. Tierarzt 66: 727-735

GWALTER, R. (1994):

Laboratoriumsuntersuchungen.

In NIEMAND, H. G., P. F. SUTER (Hrsg.):

Praktikum der Hundeklinik

Blackwell Wissenschafts-Verlag, Berlin: 67-68

HAENISCH, V. (1980):

Vaginalzytologische Untersuchungen an der Hauskatze (*Felis domestica*) unter besonderer Berücksichtigung der Abgrenzung von ovulatorischem und gravidem Zyklus.

Vet. Med. Diss., Hannover

HARDIN, C. J. (1975):

Hand-rearing a giant anteater (*Myrmecophaga tridactyla*) at Toledo Zoo. International Zoo Yearbook 16: 199-200

HATT, J.-M., R. E. HONEGGER, E. ISENBÜGEL (1998):

Reproduktion beim Grossen Ameisenbären (*Myrmecophaga tridactyla*) im Zoo Zürich- Erfahrungen und Fragezeichen.

Im Tagungsbericht der 18. Arbeitstagung der Zootierärzte im deutschsprachigen Raum, 30. Oktober bis 1. November 1998 im Zoo Amsterdam: 59-64

HOFFMANN, B., S. SCHNEIDER (1993):

Secretion and release of luteinizing hormone during the luteal phase of the oestrus cycle in the dog.

J. Reprod. Fert., Suppl. 47 (1993): 85-91

HOFFMANN, B., A. RIESENBECK, R. KLEIN (1996):

Reproductive endocrinology of bitches.

Animal Reproductive Science 42 (1996): 275-288

HOFFMANN, B., A. RIESENBECK, D. SCHAMS, B. G. STEINETZ (1999):  
Aspects on hormonal control of normal and induced parturition in the dog.  
Reprod Dom Anim 34 (1999): 219-226

JEFFCOAT, I. A., F. E. F. LINDSAY (1989):  
Ovulation detection and timing of insemination based on hormone concentrations, vaginalcytology and the endoscopies appearance of the vagina in domestic bitches.  
J. Reprod. Fertil. 39: 283-289

JAROSZ, S., B. BARABAZ (1980):  
Cytological picture of the vaginal epithelium before and during the mating season of arctic foxes.  
Acta Agraria et Silvestrian, Zootechnica 19: 73-81

JÖCHLE, W. (1976):  
Neuere Erkenntnisse über die Fortpflanzungsbiologie von Hund und Katze: Konsequenzen für die Östruskontrolle, Konzeptionsverhütung, Abortauslösung und Therapie.  
Deutsch. Tierärztl. Wochenschr. 83: 564-569

KARG, H. (1994):  
Hormonanalytische Kontrolle von Fortpflanzungsfunktionen.  
In DÖCKE, F. (Hrsg.): Veterinärmedizinische Endokrinologie  
Gustav Fischer Verlag Jena, Stuttgart: 766-783

KLEIN, R., D. SCHAMS, K. FAILING, B. HOFFMANN (2003):  
Investigations on the reestablishment of the positive feedback of oestradiol during anoestrus in the bitch.  
Reprod. Dom. Anim. 38 (2003): 13-20

KLUG, E. (1969):

Die Fortpflanzung der Hauskatze (*Felis domestica*) unter besonderer Berücksichtigung der instrumentellen Samenübertragung.

- Eine Literaturstudie -

Vet. Med. Diss., Hannover

KORNILJEWA, L. A., I. H. ROSHDESTWENSKAJA (1975):

Zur Zucht des Großen Ameisenbären, *Myrmecophaga tridactyla*, im Leningrader Zoopark.

Zool. Garten (N.F.), Jena 45 4/6: 377-384

KÜHNEL, W. (1992):

Taschenatlas der Zytologie, Histologie und mikroskopischen Anatomie, Weibliche Geschlechtsorgane,

Georg Thieme Verlag Stuttgart: 350

LEISER, R. (1990):

Weibliche Geschlechtsorgane.

In MOSIMANN, W., KOHLER, T. (Hrsg):

Zytologie, Histologie und mikroskopische Anatomie der Haussäugetiere

Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg: 246-248

LORIN, D., E. MÖSTL, H. S. CHOI, O. SCHMEHLIK, K. ARBEITER (1986):

Direkte und indirekte Trächtigkeitsdiagnose bei der Stute -

Anwendungszeitpunkt und diagnostische Sicherheit.

Wien. Tierärztl. Monatsschrift 73: 83-86

MEYER, W., C. BEYER und H. WISSDORF (1993):

Lectin histochemistry of salivary glands in the Giant Anteater (*Myrmecophaga tridactyla*).

Histol. Histopath. 8: 305-316

MOELLER, W. (1988):

Nebengelenktiere.

In Grzimeks Enzyklopädie der Säugetiere Band II

München: 576-627

MÖSTL, E., H. H. D. MEYER, G. von HEGEL, H. WIESNER, E. BAMBERG (1987):

Trächtigkeitsdiagnose bei Zootieren mittels Östrogenbestimmung im Kot.

Zuchthygiene 22: 157

MÖSTL, E., I. BRUNNER (1997):

Comparison of different progestagen assays for measuring progesterone metabolites in faeces of the bitch.

J. Veter. Medic., Series A 44: 573-578

NICKEL, R., SCHUMMER, A., SEIFERLE, E. (1987):

Lehrbuch der Anatomie der Haustiere, Eingeweide.

Paul Parey Verlag Berlin, Bd. 2: 388-389

OSMANN, C. (2000):

Sectio caesarea beim Großen Ameisenbären – Indikation, Klinik und Verlauf.

Im Tagungsbereich der 20. Arbeitstagung der Zootierärzte im deutschsprachigen Raum, 3.-5.November in Salzburg: 87-92

OSMANN, C., N. SCHAUERTE, F. GÖRITZ (2001):

Beitrag zur ultrasonographischen Darstellung der Bauch- und Beckenorgane Grosser Ameisenbären mit dem Schwerpunkt Graviditätsdiagnostik.

Im Tagungsbericht der 21. Arbeitstagung der Zootierärzte im deutschsprachigen Raum, 2.-4. November 2001 in Halle (Saale): 147-156

PATZL, M., F.SCHWARZENBERGER, C. OSMANN, E. BAMBERG,  
W. BARTMANN (1998):

Monitoring ovarian cycle and pregnancy in the giant anteater (*Myrmecophaga tridactyla*) by faecal progestagen and oestrogen analysis.

Anim. Reprod. Sci. 53: 209-219

PFLUMM, W. (1989):

Biologie der Säugetiere.

Pareys Studentexte 66

Verlag Paul Parey, Berlin, Hamburg: 396-400 u. 488-490

POUCHET, G. (1874):

Mémoires sur le Grand Fourmilier (*Myrmecophaga jubata*, Linné.).

Librairie de L'Academie de Médecine de Paris

MASSON, G., Éditeur, Paris: 194-196

POGLAYEN-NEUWALL, I. (1990):

Erfahrungen mit Haltung und Zucht des Großen Ameisenbären (*Myrmecophaga tridactyla*) im Gene Reid Zoological Park.

Zool. Garten (NF) 60 (2): 49-87

PUSCHMANN, W. (1989):

Zootierhaltung 2

Ordnung Zahnarme (*Edentata*)

Verlag Harri Deutsch, Thun, Frankfurt/Main: 137-145

PUSCHMANN, W. (2004):

Zootierhaltung, Tiere in menschlicher Obhut, Säugetiere

Ordnung Nebengelenktiere (*Xenarthra*)

Verlag Harri Deutsch, Frankfurt am Main: 253-270



RIECK, G. W., K. KRATZHELLER (1955):

Zytologie des desquamierten Vaginalepithels der Hündin und ihre Anwendung für die Zyklusdiagnostik.

Zbl. Vet. Med. 2: 82-101

RUEMPLER, G. (1995):

Nebengelenktiere (Zahnarme), Schuppentiere, Erdferkel.

In GÖLTENBOTH R., H.-G.KLÖS (Hrsg.):

Krankheiten der Zoo- und Wildtiere

Blackwell Wissenschafts-Verlag, Berlin: 396-401

SANCHEN, U., K. FISCHER (1988):

Vaginalzytologische Untersuchungen an Damtieren (*Dama dama* L.) im Jahresgang.

In: Verhandlung der Dt. Zool. Gesellschaft

81. Jahresversammlung vom 23.-28. Mai 1988 in Bielefeld

SCHARMANN, W., P. NAGEL, A. HELLER (1988):

The oestrus cycle of the Syrian hamster.

Ztschr. Versuchstierkde. 31: 276-280

SCHNORR, B. (1989):

Embryologie der Haustiere: Ein Kurzlehrbuch.

Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart: 165, 178

SCHRATTER, D. (2001):

Erfolgreiche Handaufzucht von Zwillingen bei Großen Ameisenbären (*Myrmecophaga tridactyla*) im Tiergarten Schönbrunn.

Zool. Garten (NF) 71: 97-112

- SHAW, J. H., T. S. CARTER, J. C. MCHADO-NETO (1985):  
The Evolution and Ecology of Armadillos, Sloths, and Vermilinguas.  
Ecology of the Giant Anteater *Myrmecophaga tridactyla* in Sierra da Canasta,  
Minas Gerais, Brazil: A Pilot Study.  
In MONTGOMERY, G. G. (Hrsg.)  
The University of Chicago Press, Ltd., London: 379-384
- STEINETZ, B. G., L. GOLDSMITH, G. LUST (1987):  
Plasma relaxin levels in pregnant and lactating dogs.  
Biol Reprod 37: 719-725
- STRASSER, H., R. BRINK, C. BADER (1971):  
Untersuchungen zum Sexualzyklus der Katze.  
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 84: 253-254
- TAMMER, I., K. BLENDINGER, A. SOBIRAJ, H. BOSTEDT (1994):  
Über den Einsatz der exfoliativen Vaginalzytologie im Rahmen der  
gynäkologischen Befunderhebung bei der Hündin.  
Tierärztl. Praxis 22: 199-207
- WIDHOLZER, L. F., A. W. VOSS (1977):  
Breeding the giant anteater (*Myrmecophaga tridactyla*) at Sao Leopoldo zoo.  
International Zoo Yearbook 18: 122-123
- WIESNER, E., RIBBECK, R. (1991):  
Wörterbuch der Veterinärmedizin  
E. WIESNER; R. RIBBECK (Hrsg.)  
Gustav Fischer Verlag Jena, (L-Z), 1554
- WILKENS, H. (1943):  
Die äußere Form und der Innenbau des Herzens bei *Myrmecophaga jubata* L..  
Anatom. Institut der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster, Diss.

WOLLRAB, J. (1997):

Geschlechtsorgane

In SCHMIDT, V. und HORZINEK, M.C. (Hrsg.):

Krankheiten der Katze

Ferdinand Enke Verlag Stuttgart, Bd.2, 314-362

Unbekannter Autor (1992)

Fauna: Ameisenbären

Kosmos 7: 28-32

## 9.0 Anhang

### 9.1 Tierbestand im Zoo Dortmund

Im Zoo Dortmund standen sechs weibliche Große Ameisenbären für die Untersuchungen zur Verfügung. Die angegebenen Zuchtbuchnummern stammen aus dem internationalen Zuchtbuch für Große Ameisenbären (BARTMANN, W., 1999-2000).

„*Argentina*“ Wildfang (März 1988, als adultes Tier)

Zuchtbuchnummer: 0245

6 Geburten

„*Karla*“ geboren in Dortmund, 02.11.1989

Zuchtbuchnummer: 0255

10 Geburten

„*Mira*“ geboren in Dortmund, 05.03.1992

Zuchtbuchnummer: 0312

8 Geburten

„*Sandra*“ geboren in Dortmund, 09.06.1994

Zuchtbuchnummer: 0356

2 Geburten

„*Vera*“ geboren in Dortmund, 29.04.1995

Zuchtbuchnummer: 0388

21.01.2002: 1 Totgeburt

31.08.2002: Tod bei Schweregeburt des 2. Jungtieres

„*Fanny*“ geboren in Dortmund, 12.01.1999 (inzwischen verstorben)

Zuchtbuchnummer: 0493

keine Nachzucht

keine Untersuchung, da Tier sehr aggressiv

„*Juanita*“ geboren in Dortmund, 23.03.2000  
 Zuchtbuchnummer: 0530  
 1 Geburt

## 9.2 Sektionsgut

Im November 2000 wurde ein weiblicher Großer Ameisenbär im Zoo Krefeld euthanasiert und zur Sektion in den Zoo Dortmund gebracht:

„*Rosi*“ Wildfang (01.04.1970)  
 Euthanasie im November 2000, Haltungsrekord  
 Zuchtbuchnummer: 0082  
 nie gezüchtet

Unter der Schweregeburt des zweiten Jungtieres verstorben:

„*Vera*“ geboren in Dortmund, 29.04.1995  
 Zuchtbuchnummer: 0388  
 21.01.2002: 1 Totgeburt  
 31.08.2002: Tod bei Schweregeburt des 2. Jungtieres

Ein weiblicher Ameisenbär aus dem Zoo Duisburg:

Wildfang (29.09.1983)  
 Zuchtbuchnummer: 0051  
 Euthanasie Mai 2003 in Duisburg  
 Pathologisch-anatomische Untersuchung des Urogenitaltraktes  
 am 03.06.2003 im Zoo Dortmund

„*Pia*“ aus „*Mira*“  
 Zwei Tage post partum gestorben